
目 次

<2020年度 農生命科学研究プロジェクト研究成果報告>

●大学戦略研究プロジェクト

1. 環境 DNA を用いた流行性病原体の自然環境下における感染経路ネットワーク推定…………… 1
研究代表者 農学部 動物科学科 米澤 隆弘
2. 食用藍藻スピルリナが生産する細胞外高分子物質 EPS の機能評価と大量生産系の構築…………… 6
研究代表者 生命科学部 バイオサイエンス学科 渡辺 智
3. カンボジア王国コンポンチャム州におけるバイオエネルギーを活用した農産物の加工条件
および加工システムの構築…………… 12
研究代表者 地域環境科学部 生産環境工学科 村松 良樹
4. アジア地域産薬草が持つ機能性・安全性の網羅的評価法の確立…………… 24
研究代表者 国際食料情報学部 国際食農科学科 山内 淳
5. 渡り鳥の生息環境を指標とした、日露陸海域の生態系保全を目指す研究…………… 34
研究代表者 生物産業学部 北方圏農学科 白木 彩子
6. 異科属植物間での接木を志向した分子科学的アプローチ…………… 127
研究代表者 生命科学部 分子生命化学科 斉藤 竜男
7. 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…………… 132
研究代表者 農学部 デザイン農学科 松田 浩敬
8. 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…………… 139
研究代表者 農学部 生物資源開発学科 小島 弘昭
9. 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…………… 150
研究代表者 生物産業学部 北方圏農学科 中丸 康夫
10. 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…………… 156
研究代表者 農学部 生物資源開発学科 小松 憲治
11. 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…………… 160
研究代表者 地域環境科学部 森林総合科学科 今井 伸夫
12. 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…………… 175
研究代表者 地域環境科学部 生産環境工学科 鈴木 伸治

●学部長主導型研究プロジェクト

1. 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 - 184
研究代表者 応用生物科学部 栄養科学科 本間 和宏
2. 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～..... 216
研究代表者 生物産業学部 北方圏農学科 吉田 穂積

●海外協定校との共同研究プロジェクト

1. 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..... 226
研究代表者 地域環境科学部 地域創成科学科 下嶋 聖
2. 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..... 243
研究代表者 地域環境科学部 造園科学科 鈴木 貢次郎

●ゲノム育種プロジェクト

1. 穀類遺伝資源の全粒粉を利用した高機能性かつ嗜好性を併せ持つ国産食品の開発..... 248
研究代表者 農学部 農学科 西尾 善太
2. miRNAに着目した高機能性トマトの開発 260
研究代表者 生命科学部 バイオサイエンス学科 四井 いずみ

●ロシア共同研究プロジェクト

1. ロシアンミツバチとその生産物の特性に関する研究
(ミツバチによるポリネーションの持続と新たな食品開発を目指して)..... 263
研究代表者 生物産業学部 食香粧化学科 丹羽 光一
2. ロシアウラジオストク地域におけるイチゴのフードバリューチェーン構築に向けた
市場性調査..... 269
研究代表者 国際食料情報学部 食料環境経済学科 大浦 裕二

●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. ゲノム編集による低シュウ酸含量ホウレンソウ育種を目指したVIGS技術によるターゲット
遺伝子の同定と形質転換系の確立..... 283
研究代表者 生命科学部 バイオサイエンス学科 太治 輝昭

2. コムギコアコレクションを利用したコムギの高温ストレス耐性に関わる最適な DNA マーカーの開発	287
研究代表者 農学部 農学科 西尾 善太	
3. 冬季および高冷地での土壌の低温環境が緑肥分解および養分可給化に与える影響	295
研究代表者 農学部 農学科 中塚 博子	
4. 新たな野生動物個体数調節手法としての不妊化ワクチンの開発	303
研究代表者 生物産業学部 北方圏農学科 相馬 幸作	

<2020年度 大学院先導的実学研究プロジェクト研究成果報告>

1. 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	306
研究代表者 農学研究科 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	310
研究代表者 生命科学部 バイオサイエンス学科 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	315
研究代表者 応用生物科学部 農芸化学科 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	318
研究代表者 生物産業学研究科 生物生産学専攻 和田 健太	

<研究所記事>

●東京農業大学総合研究所研究会 令和2年度事業報告	325
---------------------------	-----

2020年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 米澤 隆弘

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
環境 DNA を用いた流行性病原体の自然環境下における感染経路ネットワーク推定	2,000,000

2. 研究組織

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

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究目的

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

5. 研究（実験）方法

1. 環境試料を用いた病原体の検出と遺伝的多様性の解析

昨年度までに東丹沢と西丹沢のヌタ場、地理的に離れた小菅のヌタ場の水およびその周辺土壌を環境試料とし採取して環境 DNA 解析を進めてきたが、本年度はヌタ場を利用する動物の腸内細菌に着目し微生物叢の解

析を行った。丹沢地域のハンターの協力を得て捕獲したイノシシの腸管を採取し、細菌類と真菌類の 16S を解析した。

2. センサーカメラを用いたイノシシのヌタ場の利用に関する解析

西丹沢と東丹沢のヌタ場にセンサーカメラをそれぞれ 5 か所ずつ設置し、ヌタ場を利用するイノシシの撮影を 1 年間行った。30 秒の動画を撮影し、イノシシの行動、齢区分、群れ構成を記録した。春：3～5 月 夏：6～8 月 秋：9～11 月 冬：12～2 月と定義し、100 日あたりの撮影枚数である撮影頻度算出(撮影頻度=撮影枚数/カメラ設置日×100(日))した。

3. 非侵襲的サンプリングによるヌタ場を利用する動物の DNA 解析

ヌタ場を高頻度で利用する大型動物、特にイノシシはヌタ場付近の木や石などに体を擦り付ける性質があり、その際、体毛が脱落することがある。そうした体毛を採取し DNA を抽出することでヌタ場を利用するイノシシの集団構造の解明を目指した。複数の個体がひとつのヌタ場を利用するためまとめて脱落した体毛であっても、1 本分の毛根から DNA を抽出し、ミトコンドリア DNA の解析を行った。特に遺伝的多型の多くみられる調節領域の超可変領域を対象に PCR 増幅を行い、シーケンシングを行った。先行研究での神奈川県とのデータと比較し SAMOVA 法により県内での集団構造の解析を行った。またヌタ場を利用するタヌキについてもミトコンドリア DNA の解析を行い種による移動パターンの比較を行った。その一方でミトコンドリア DNA は母系遺伝のみの情報に限られるため動物の集団構造や移動パターンを理解するうえで十分な情報が得られないという問題が昨年までの課題として残されていたため、本年度は FAO/ISAC 推奨のマイクロサテライト領域を用いたイノシシの集団遺伝学的解析を行った。しかしながらヌタ場から採取された体毛からは核遺伝子であるマイクロサテライトを増幅することができなかつたため、丹沢地域のハンターの協力を得て採取された筋肉組織 28 個体分を解析した。最終的に 8 座位分のマイクロサテライト領域を用いた集団遺伝学的な解析を行うことができた。

6. 研究成果

昨年までに中大型哺乳類のヌタ場利用の地域的、季節的変化についての報告を行ったが、本年度は年間を通して最も高頻度でヌタ場を利用するイノシシに着目して①群れ構成とヌタ浴びの関係、②地域集団間、集団内で利用するヌタ場の違いに関する解析を行った。その結果、幼獣から成獣までのヌタ浴びを確認したが、成獣単独は全体の 71% を占め有意に多かった(図 1: $p < 0.05$)。このことは単独性が強いイノシシの社会を反映していると考えられる。

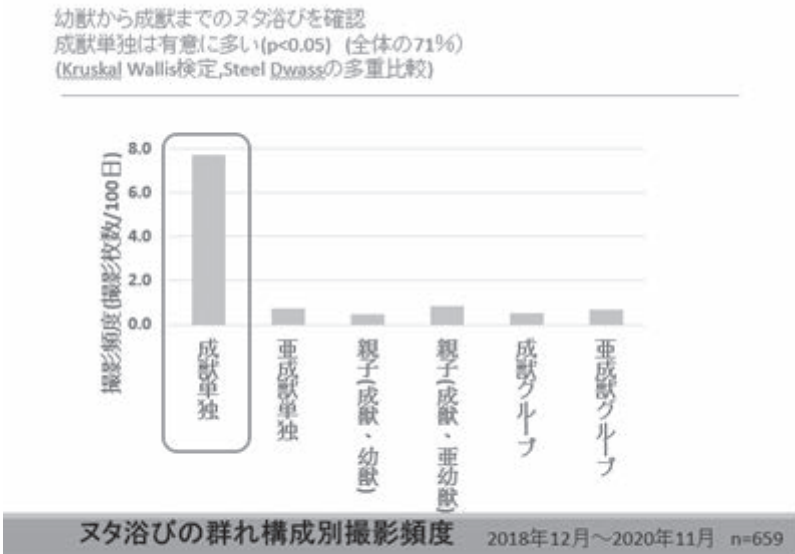


図 1: 群れ構成別のヌタ浴び

また季節変化に関しては、成獣単独での利用が通年で多く、季節間に有意差は無かった(図 2:p>0.05)。これまでヌタ浴びは繁殖にともなう行動(Fernández-Llario 2005)と考えられてきたが、季節間に有意差がみられないことや繁殖に参加しない齢や群れ構成の個体(幼獣を連れた母親、亜成獣)も繁殖期にヌタ浴びをしていることから本研究ではヌタ浴びと繁殖の関係は弱いとの結論に至った。ヌタ浴びの目的は体温調節や外部寄生虫の防除(Brake 2011)との説もあるが、先行研究(Van Putten 1978 ;Brake 2011)においても冬期にも皮膚や毛の保護のためにヌタ浴びをすることが示唆されているように冬期にもヌタ浴びは多く確認されていることから本研究では体温調節に加えて、皮膚の保護も主な目的であることが示唆された。

昨年から引き続き行っているミトコンドリアの解析では丹沢地域では同一の母系集団が同じヌタ場を利用している事を示唆されたが(図 3)、本年度はマイクロサテライトによる高解像度の解析を行ったところ Structure 解析(図 4)や系統ネットワーク解析(図 5)などの結果も、丹沢東西地域間で明確な集団構造が確認されず、これらの地域間でイノシシが比較的自由に移動していることが示唆された。

環境 DNA に関しては東丹沢、西丹沢、小菅村の土壌とヌタ場の環境サンプルから DNA を抽出し、16SrRNA の配列に基づく原核生物の系統組成解析を行った。門レベルでの系統組成を図 6 に示す。ヌタ場では土壌と比べて Acidobacteria 門や Planctomycetes 門が相対的に少なく、Chloroflex 門が多いなどの特徴がみられた。またヌタ場は周辺土壌と比べて Enterococci などの各種病原菌がヌタ場の方が周辺土壌よりも多く検出された。Bray Curtis 指数を指標として群集のクラスター分析を行ったところ土壌とヌタ場は明瞭に区別された(図 7)。このことはヌタ場の微生物叢は単純に周囲の土壌に由来しているのではなく、独自の群衆構造を持つことを示唆している。

成獣単独は通年で多い
季節間に有意差無し(p>0.05)
(Kruskal Wallis検定,Steel Dwassの多重比較)

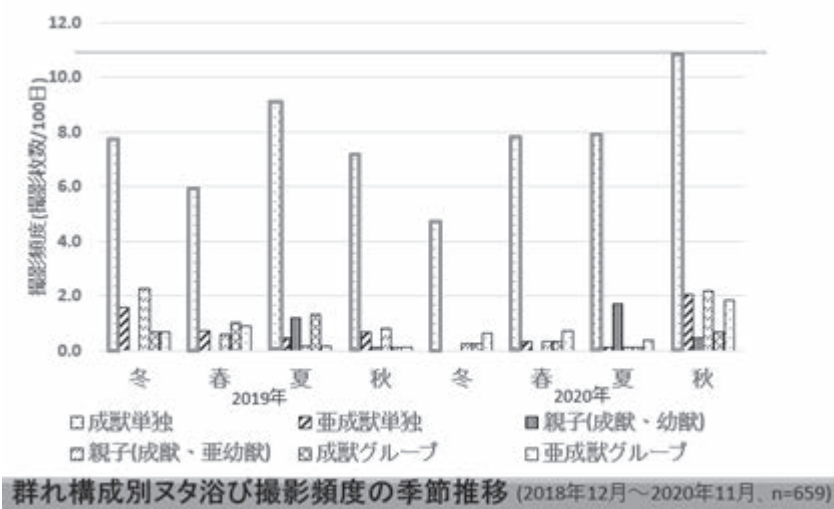


図 2:群れ構成別ヌタ浴びの季節推移

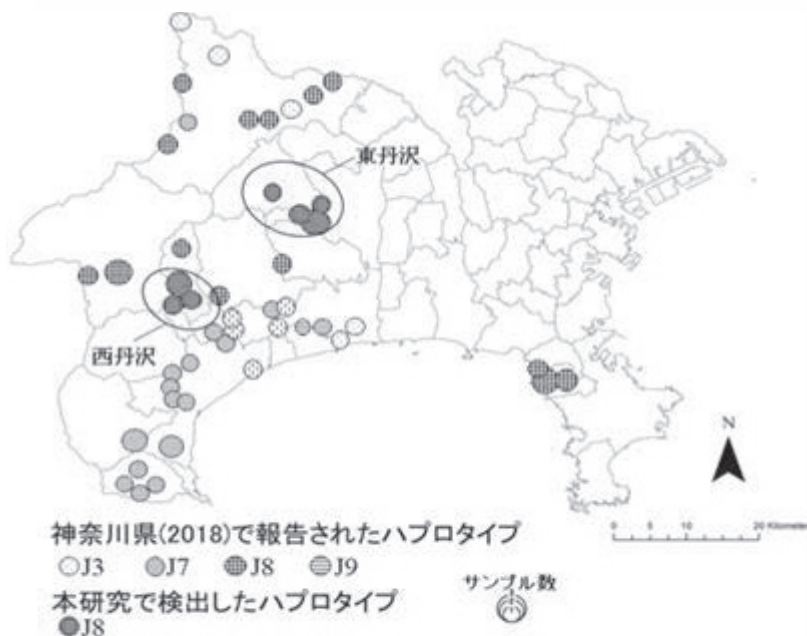


図 3:非侵襲的に採取されたミトコンドリア DNA のハプロ

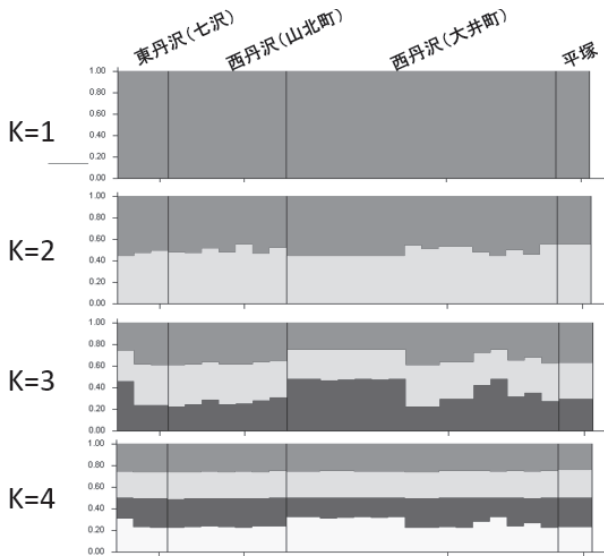


図 4: マイクロサテライト DNA を用いた Structure 解析に基づくイノシシの集団構造

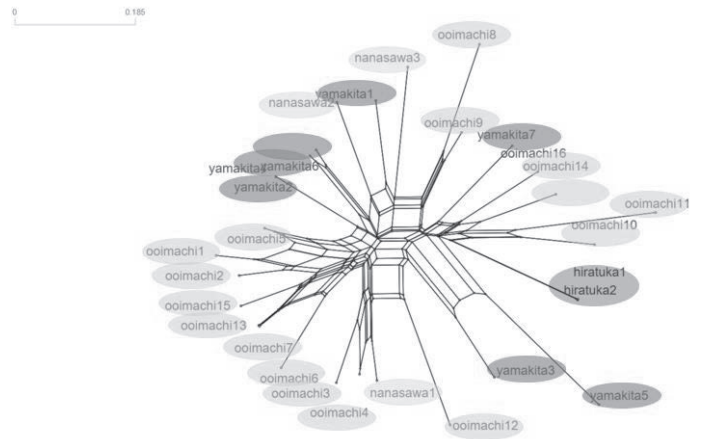


図 5: マイクロサテライト DNA を用いたイノシシの系統ネットワーク

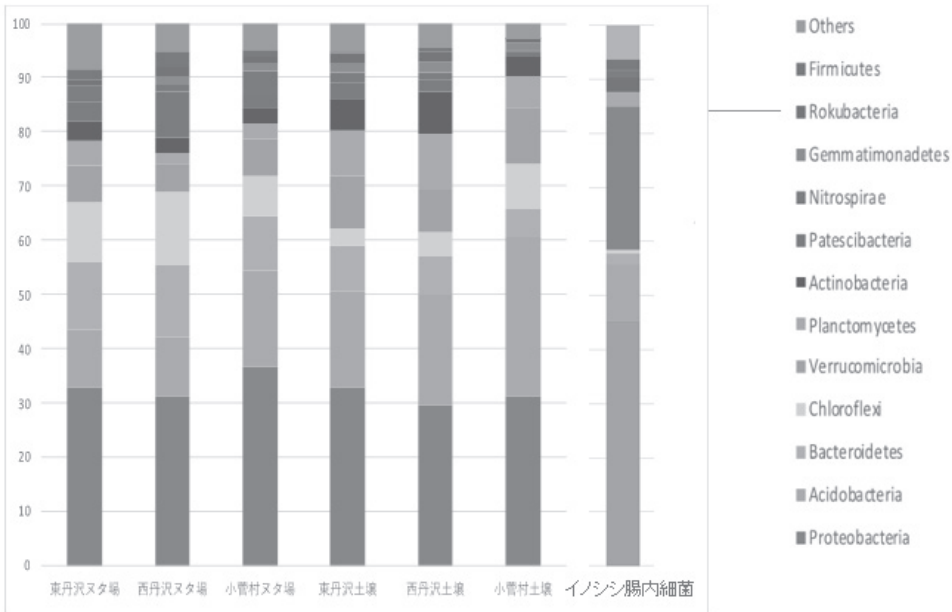


図 6: 16SrRNA に基づく東丹沢、西丹沢、小菅村の土壌とヌタ場およびイノシシ腸内微生物叢の門レベルの系統組成

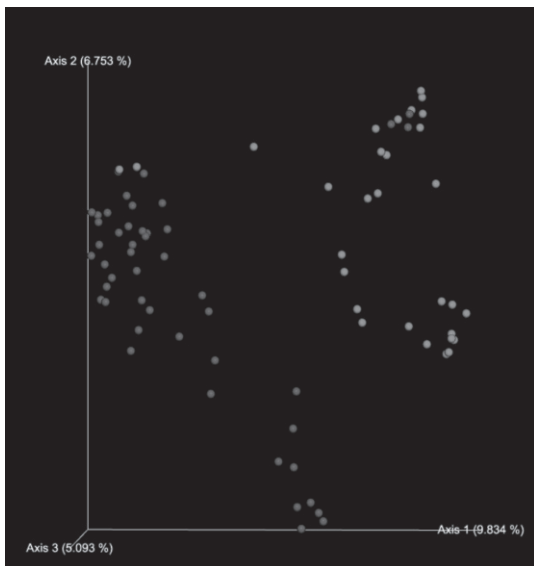


図 7: 16SrRNA に基づく Bray-Curtis 指数を指標としたクラスタリング。赤い点はヌタ場由来の、青い点は周辺土壌の微生物群集を示す。

次にヌタ場を高頻度で利用しているイノシシに着目し、その腸内微生物叢の系統組成を調べた（図6右）。ヌタ場は、Euryarchaeota, Crenarchaeota（アーキア）、Nitrospinae、Cloacimonete、Firmicutes（バクテリア）が多い。このうち Euryarchaeota, Crenarchaeota は腸内細菌叢にはほとんど見られなかったが、Nitrospinae と Firmicutes は高頻度で見られた。

Methanosaeta（メタノトリクス属）：ヌタ場に多く腸内では全く見られない。

Desulfatirhabdium（硫酸還元菌）：ヌタ場に多く腸内ではごく低頻度。

Methylobacter（メタン酸化細菌）：ヌタ場に多く腸内でも高頻度

Methylomonas（メチル酸化細菌）：ヌタ場に多く腸内でも高頻度

Methylotenera（メチル栄養細菌）：ヌタ場に多く腸内でも高頻度

以上より周辺土壌と比較してヌタ場で高頻度で見られる系統の中にはイノシシの腸内細菌と共通する系統も存在し複雑な感染ネットワークを構築している可能性が示唆された。

7. 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

8. 残された問題点と今後の研究推進方策

本プロジェクトは生態学的調査と環境DNAの調査を二本の柱としておりそれを融合させることで環境中の病原体感染経路ネットワークを解明することを目的としている。前者に関しては3年に亘る調査で十分なデータを得ることができた一方で、本年度はコロナ禍の影響で後者に関しては微生物叢の変化の季節的な推移など本年度予定していたいくつかの分析を行うことができなかった。その一方で腸内細菌叢について重要なデータが得られた。このデータは現在解析中だが本研究活動により得られたデータの活用を通して動物（腸内細菌）⇔環境(ヌタ場・周辺土壌)の関係や、地域間での微生物の移動を解き明かしていく予定である。

9. 公表した成果一覧

学術論文

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

2020年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者 渡辺 智

1. 研究課題名および予算額

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

2. 研究組織

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

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

植物と同様の酸素発生型光合成を行う藍藻は、様々な環境に生息し地球環境の維持に大きく貢献している。アフリカの塩湖であるチャド湖から単離された糸状性藍藻 *Arthrospira platensis*（通称、スピルリナ）は、古くから現地で食されており現在では健康食品や色素の材料として産業的に生産されている。

塩湖から単離されたスピルリナは好塩性、好アルカリ性形質を有しており、開放環境においても無菌的に大量培養することが可能である。

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

5. 研究目的

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

6. 研究（実験）方法

昨年度に引き続き、スピルリナの各増殖相における遺伝子発現・EPS 成分の分析を進め、EPS 生産の分子メカニズムを明らかにする。顕微鏡観察で確認されたスピルリナに付着したバクテリアについて、単離と同定、ゲノム解析を試みる。またスピルリナの有用性と本学における研究活動を普及させることを目的として、スピルリナを配合したフィナンシェを試作し、販売に向けた準備を進める。農大三高付属中学校科学部ではスピルリナの魚類飼料としての利用を検討する。一方、アフリカ・ジブチにおける藻類調査ではアルカリ性水質の溜池に大量発生する藻類について、現地調査を実施する。さらにアフリカでのスピルリナ大量培養に向けて、スピルリナを安価かつ簡単に培養できる条件を探索する。

研究項目 1. スピルリナ EPS 形成の分子メカニズムの解明（渡辺、前田、浦井、渡邊、川澄、兼崎）

- 1-1. スピルリナの EPS 形成条件の検討
- 1-2. スピルリナ EPS に共生するバクテリアのゲノム解析
- 1-3. スピルリナ EPS の構成成分評価
- 1-3. スピルリナ形質転換に向けた薬剤濃度条件の検討

研究項目 2. スピルリナの普及に向けた取り組み（谷岡、渡邊、川澄）

- 2-1. スピルリナフィナンシェの試作
- 2-2. 高校生の生物教材（養殖魚飼料）としての利用

研究項目 3. ジブチの溜池に発生した藻類の調査（藤本、渡辺、鈴木、大森）

- 3-1. ジブチに生息する藻類の観察

研究項目 4. スピルリナの簡易培養試験（鈴木、渡辺、渡邊、川澄）

- 4-1. 肥料原料を利用したスピルリナ培養
- 4-2. ジブチの水を用いたスピルリナ培養試験
- 4-3. コンクリート片を用いたスピルリナ培養試験

7. 研究成果

研究項目 1. スピルリナ EPS 形成の分子メカニズムの解明（渡辺、前田、浦井、渡邊、川澄、藤本、兼崎）

EPS 形成メカニズムをより詳細に解析するために、培養方法と EPS 誘導条件を検討した。これまで 5 L スケールで培養を行っていたが 300 mL、50 mL とスケールダウンした試験管レベルでも 1 週間の強光処理を行うことで培地のアルカリ化が起これ、スピルリナが EPS を形成することを確認した。小スケールでの培養系において、いくつかのスピルリナ種で強光応答を比較すると、スピルリナ *Arthrospira platensis* NIES39 と同様の EPS 形成が *Arthrospira platensis* NIES46、*Arthrospira platensis* NIES2308 でも確認された。この結果より、スピルリナ強光処理による EPS 形成はスピルリナに共通した現象であることが示された。

昨年度スピルリナ NIES39 の EPS に見出したバクテリアの単離とゲノム解析を実施した。培地 pH を 10 に調整した AONO 培地にてシングルコロニー単離し、バクテリアコロニーを純化した。PacBio 社と illumina 社の 2 種の NGS を組み合わせてシーケンスすることで *Bacillus krulwichiae* と同族同種のゲノムを完全に決定することに成功した。スピルリナ NIES46 の EPS についてもバクテリアが観察されたため、同様の手法で単離し解析すると *B. krulwichiae* とは別種の極限環境微生物 *Bacillus pseudofirmus* に近縁なバクテリアであることがわかった。スピルリナごとに EPS に発生するバクテリアが異なると考えられる。*B. pseudofirmus* に関しても全ゲノム配列を解読中である。

スピルリナ EPS に含まれる多糖の分析を試みた。熱水抽出により多糖類を多く含む高分子画分の取得に成功した。NMR 分析によりスピルランに特徴的なラムノースのシグナルが検出されなかったことから、EPS はスピルランとは異なる構造を持つことが示唆された。さらに NMR により EPS に含まれる多糖の構造を解析した結果、グリコーゲン標品と類似したスペクトルを示した。

スピルリナの遺伝子改変を目指し、選択マーカーとなる薬剤および最小発育阻止濃度 (MIC) の検討を進めた。昨年度までの結果から、スピルリナはカナマイシン、ゲンタマイシンに対しては高い耐性を示す一方、スペクチノマイシンが効果的であること (MIC: 0.5 µg/ml) が示されている。今年度は栄養要求性マーカーとして利用可能な 5-FOA (5 フルオロオロチン酸) の MIC を検討し、NIES39 では 3 µg/ml、NIES46 では 5 µg/ml であることが示された。また寒天培地上でのコロニー形成条件についても検討を行った結果、スピルリナ NIES-46 において、1.5 % の寒天でコロニーを形成することがわかった。

研究項目 2. スピルリナの普及に向けた取り組み（谷岡、渡邊、川澄）

スピルリナの有用性と本学での研究活動を社会に広めることを目的として、清田産業株式会社とともにスピルリナ配合フィナンシェを開発した。スピルリナの配合料を検討し、フィナンシェ 1 つあたり 1% のスピルリナパウダー配合を決定した。さらにスピルリナパウダー 1g あたりに含まれるスピルリナトリコーム数が 2000-3000 万であることを実験的に明らかにした。現在、商品化に向けて打ち合わせを進めており、メルカード東京農大を通じた販売を目指して調整を続けている。パッケージはイラストレーターである西内としお氏にデザインを依頼し、スピルリナフィナンシェ 20 g (スピルリナパウダー 0.2 g) あたり 600 万匹のスピルリナが含まれることを表示する予定である。

昨年度より東京農大第三高校附属中学校（農大三中）科学部において、スピルリナの魚への飼料としての研究を開始した。これまでにスピルリナを配合した飼料を独自で作成し、養殖魚に対し給餌試験を実施し、飼料として利用可能であることを確認した。今年度はコロナウィルス感染拡大防止の観点から科学部の活動も大きく制限されているが、今後も継続してスピルリナ飼料の開発を行う予定である。

研究項目 3. ジブチの溜池に発生した藻類の調査（藤本、渡辺、鈴木、大森）

昨年度、ジブチ西部で螺旋状の藻類を発見しており、今年度は螺旋状藻類の採取を行うことを計画していた。しかし、コロナウィルス感染拡大に伴いジブチへの渡航ができず、今年度は研究が実施できなかった。

研究項目 4. スピルリナの簡易培養試験（鈴木、渡辺、渡邊、川澄）

スピルリナを簡易かつ安価に培養することを目的として、添加する培地成分の検討を実施した。窒素源として SOT 合成培地に添加している硝酸ナトリウムの代わりに堆肥原料を添加して培養すると、フェザーミール、魚粉末、ナタネ油粕は 30 mg/L の添加で硝酸ナトリウムを代替できることが示された。また昨年度、ジブチ農業省の許可を得て持ちかえったジブチの水を用いたスピルリナ培養にも取り組んだ。100 倍に希釈した塩湖水（アッサル湖）でスピルリナの増殖を確認することができた。

建築資材として使われているコンクリートは、セメント内に含まれる鉱物が水と反応して水酸化カルシウムが生成されることによって水をアルカリ性にする性質がある。そこで、コンクリート片を使用して水の pH がどの程度調整できるのか、またコンクリート片を使って pH を調整した水でスピルリナが培養できるのかについて検討した。脱イオン水 30mL に対し 0.2g のコンクリート片を加えることにより、スピルリナの質量が約 10 倍に増加することがわかった。

上記の研究により、実験環境で用いられる SOT 合成培地に比べると、上記の安価素材で増殖したスピルリナの生育は悪く、2 週間経過すると黄色化した後、枯死した。今後はこれらの安価物質を組み合わせで利用したり、SOT の微量に成分を追加するなど、培養条件を検討することで、安定な培養が実現できると考えられる。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

渡辺および鈴木は、平成 30 年度より開始した SATREPS 「ジブチにおける広域緑化ポテンシャル評価に基づいた発展的・持続可能水資源管理技術確立に関する研究」（代表：島田沢彦教授）の研究分担者である。SATREPS ではジブチにおけるスピルリナ培養、およびその利用を担当しており、本プロジェクトで得られた成果を活用できる。また、企業からの問い合わせもあり、本プロジェクトを推進することで企業との共同研究、特許出願が期待される。これまでに三井物産株式会社、DIC 株式会社、株式会社ユーグレナとの研究打ち合わせを実施した。またスピルリナ研究のアウトリーチ活動の一環として、清田産業株式会社と共にスピルリナパウダーを用いた商品開発した。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

スピルリナの基本的な解析環境が整備でき、さらに研究のための手法についての基礎的データを取得できた。これまでの成果は、プレリミナリーなものが多いため、さらに再現性を確認する必要がある。今後も企業との共同研究、大型外部資金の獲得も視野に入れて国内外から情報収集を進める予定である。本プロジェクトは最終年度を迎えるが、今後重点的に研究すべき研究は下記の通りである。

1. スピルリナ EPS 形成の分子メカニズム

今年度の成果より、スピルリナ EPS に含まれている成分（熱水抽出画分）の主成分はグリコーゲンであった。グリコーゲンは細胞内の貯蔵糖であり、本プロジェクトで追跡していた細胞凝集塊はスピルリナが分泌した糖ではなく、強光高アルカリ処理で壊れた細胞から溶出したグリコーゲンであったと考

えられる。

スピルリナの強光処理による EPS 形成と細菌発生は以下のように起こると考察された。

- (1) 強光による過剰な還元力消費のため、SOT 培地中の炭酸水素ナトリウムより CO₂ を消費、培地中に水酸化ナトリウムが蓄積することにより、培地 pH の上昇が起こる。
- (2) 長期の強光処理により光合成活性の低下、抗菌ペプチドの生産量低下 (RNAseq 結果より) が起こり、細胞内に貯蔵糖であるグリコーゲンが蓄積する。
- (3) 強光、培地アルカリ化による溶菌、溶出した基質を介した細胞間接着 (EPS 形成) が起こり、グリコーゲンを糖源とした好アルカリ性細菌が発生する。

スピルリナの生産現場では、長期培養によりスピルリナが汚泥と混ざったスラッジが生じ、品質保持のための問題となることが知られている。本研究から明らかとなってきたスピルリナ EPS 形成機構は、このようなスピルリナ生産現場における品質管理の観点からも重要な知見である。

また、スピルリナには高い抗酸化作用を示す含硫アミノ酸が含まれることが報告されている。有用成分の生産に対する、環境ストレスや共生細菌の効果についての研究が望まれる。

2. スピルリナの形質転換に向けて

これまでに遺伝子組換えにより有用なスピルリナを作出しようという試みが国内外のグループで行われてきた。いくつかの論文が発表されているものの、未だに安定したスピルリナ形質転換技術は確立されていないのが現状である。本プロジェクトにおいて、スピルリナ NIES39、NIES46 の MIC や寒天培地上でのコロニー形成条件が明らかとなった。形質転換技術を確立するには、ゲノム編集技術などの先端技術と組み合わせながら、さらに継続して条件を検討する必要があると考えられる。

3. スピルリナの肥料開発

乾燥させたスピルリナ粉末には高い保水効果があることがわかった。スピルリナは植物の成長に必要な成分を全て含んでおり、植物の成長促進作用が期待できる。今後、スピルリナの堆肥化条件を検討しつつ、農作物に対する施肥効果を調べていく必要があると考えられる。

4. スピルリナの飼料開発

スピルリナは色素を豊富に含むため、錦鯉や金魚など一部の養殖魚の色上げに利用されるが、他の魚類に対しても飼料としての有用性や効果が期待できる。またタンパク質を豊富に含むため、スピルリナ飼料は魚類だけでなく畜産業にも利用できると考えられる。

5. アフリカ・ジブチにおけるスピルリナ研究の展開

昨年度の調査により、ジブチ西部の溜池より螺旋状の藻類が見つかった。ジブチに隣接するエチオピアよりスピルリナが単離されたという情報もあり、ジブチ西部のアッベ湖での調査を行うことでジブチ産スピルリナの発見が期待できる。また、本プロジェクトより海水や堆肥原料、さらにコンクリート片などを利用した安価に入手できる物質を利用した培養方法の基礎的な知見が得られた。このような低コストかつ簡便な培養技術の確立は、ジブチのみならず様々な国でのスピルリナの普及において重要である。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Kurio Y, Koike Y, Kanasaki Y, Watanabe S, Ehira S. The CRP-family transcriptional regulator DevH regulates expression of heterocyst-specific genes at the later stage of differentiation in the cyanobacterium *Anabaena* sp.

strain PCC 7120. *Mol. Microbiol.* 2020, 114, 553

- 2) Kashimoto T, Miyake K, Sato M, Maeda K, Matsumoto C, Ikeuchi M, Toyooka K, Watanabe S, Kanesaki Y, Narikawa R. Acclimation process of the chlorophyll d-bearing cyanobacterium *Acaryochloris marina* to an orange light environment revealed by transcriptomic analysis and electron microscopic observation. *J Gen Appl Microbiol.* 2020, 17, 106
- 3) Watanabe S, Saito S, Suezaki Y, Seguchi T, Ohbayashi R. Specific binding of DnaA to the DnaA box motif in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *J Gen Appl Microbiol.* 2020, 17, 80
- 4) Saito M, Watanabe S, Nimura-Matsune K, Yoshikawa H, Nakamoto H. Regulation of the *groESL1* transcription by the HrcA repressor and a novel transcription factor Orf7.5 in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC7942. *J Gen Appl Microbiol.* 2020, 17, 85.
- 5) Mahbub M, Hemm L, Yang Y, Kaur R, Carmen H, Engl C, Huokko T, Riediger M, Watanabe S, Liu LN, Wilde A, Hess WR, Mullineaux CW.M, mRNA localization, reaction centre biogenesis and thylakoid membrane targeting in cyanobacteria. *Nat Plants*, 2020, 6, 1179.

学会発表

- 1) 坂巻 裕、前田 海成、兼崎 友、大森 正之、朝井 計、渡辺 智、食用藍藻スピルリナが生産する細胞外高分子物質に関する研究、2021年日本農芸化学会年会、東北大学（オンライン）

2020年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者 村松 良樹

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)	予算額(円)
カンボジア王国コンポンチャム州におけるバイオエネルギーを活用した農産物の加工条件および加工システムの構築	食の安全、 エネルギー関 係、国際、地域、 食料生産	2,500,000

2. 研究組織

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

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

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

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

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

5. 研究目的

本研究の目的は、1) カンボジア王立農業大学（RUA）や特定非営利活動法人 環境修復保全機構（ERECON）の協力を得ながら地域に根ざした食品加工技術を適用して加工食品を開発すること、2) 安全性と品質が保証された加工方法を明確化すること、3) 地域の自然資源を用いてバイオエネルギーを開発すること、4) 開発したバイオエネルギーを活用した加工システムを構築することである。さらに開発した加工食品やバイオエネルギー、加工技術の普及活動も行って、持続可能な農村開発や女性の経済的エンパワメントの向上につなげていくことを目指すことも目的としている。

3年目の本年度は、加工食品開発では青パパイヤやタロイモを用いたピクルス、乾燥野菜、野菜チップスの開発とこれらの受入度調査、食品衛生に関しては微生物検出法の開発ならびに現地の家庭と同様なレシピ・方法・条件で製造したピクルスの衛生評価、エネルギー開発においては、現地でのメタン発酵試験と解析を中心に行った。

6. 研究（実験）方法

(1) 食品加工

1) 青パパイヤピクルスの試作

昨年度は、カシューアップルを用いたジャムの試作を行い、カシューアップルジャムは加工品の一つとして現地に受け入れられる可能性が示唆された。本年度は青パパイヤを用いたピクルスの試作を行った。また、昨年度までの衛生調査の結果より、現地における漬物製品は糖度や pH においてはある程度保存性が利く条件になっているものの食中毒菌が多く検出された。この原因として開放系で食品提供を

行っているためであると考えられる。よって、ジャム同様にビン詰にして保存が利くピクルスを作成した。青パパイヤの外皮を除去後、30 mm × 10 mm サイズになるように短冊状に切り1分間の下茹でを行った後ビンに詰め、一煮立ちさせた漬液（砂糖、塩、食酢、醤油、魚醤油、水）を熱い状態でビンに入れフタをし密閉した。試作したピクルスは、pH、Brix 糖度、塩分濃度の他、ビン内の真空度を測定し保存性の評価を行った。ピクルスの食味や受入度の評価・調査は、現地および本学（東京農業大学在籍の留学生を主として対象）において実施した。

2) 乾燥青パパイヤの開発

乾燥食品開発に関しては、昨年度に引き続き、青パパイヤの乾燥特性および復水特性を測定した。試料として生のままのパパイヤと成型した後、ブランシング処理したものの2種類を用いた。乾燥青パパイヤを利用する際には、復水操作（水戻し）が必要となる。そのため、乾燥させた青パパイヤの復水特性も測定した。

3) タロイモチップスの試作

現地においてタロイモチップスはポピュラーなスナック菓子の一つである。しかし、これらの多くは、品質のよいとはいえない油で揚げられており、透明なビニール袋に入れられて販売されている。そのため、販売・保存中に脂質の劣化（酸化）が進み、タロイモチップスの品質が低下してしまいます。また、油で揚げているので摂取カロリーが高くなってしまいます。そこで、油で揚げない野菜チップスを開発することを目的とした。具体的には、2020年11月東京農業大学伊勢原農場で収穫されたタロイモ（品種：セレベス）を用いた。品種：セレベスはカンボジアで生産されているタロイモの特性に近いので、この品種を用いた。なお、タロイモは東京農業大学・国際食料情報学部・国際農業開発学科・教授 入江憲治先生よりご提供頂いた。

厚さ2 mm と3 mm にスライサーを用いてタロイモをスライスし、直径5 cm の円形になるようにクッキーの型で成型した。これを2 L の水中で、10分間水さらしをした。その後、2.5 L の熱湯の入った鍋に浸漬し、試料をブランシングした。ブランシング後、鍋から試料を取り出し、余剰水分を除去した。その後、庫内温度70 °Cに設定した乾燥機に、試料を重ねないように入れ、24時間乾燥させた。

比較対象用として成型、水さらしおよび余剰水分を除去した試料を160 °Cの油温で電気フライヤーを用いて揚げたタロイモチップスも試作した。

熱風乾燥法により試作した厚さ3 mm のタロイモチップスをサンプルA、厚さ2 mm のものをサンプルB、油で揚げたタロイモチップス（厚さ2 mm）をサンプルCとして、嗜好型官能評価を行った。評価項目は、見た目、硬さ、香り、総合の4項目とし、5段階で評価した。パネリストは東京農業大学在籍学生31名（21歳～26歳、男性18名、女性13名）であった。

(2) 食品衛生

カンボジアでは食中毒件数が多い。これは複数の省庁が食品衛生に関係し、衛生指導が徹底されていないのと同時に、検査体制の不備もあり、正確な食中毒件数や食中毒患者数の把握ができていない現状である。近年の発展途上に伴い、安全な加工食品の比率が高まっている一方、伝統的に家庭などで生産される発酵食品については調理現場、流通・保管、原材料、水などの衛生面の不備などから毎年多くの食中毒者を出している現状にある。そこで本プロジェクト衛生チームは衛生状況の把握ならびに現場での衛生試験および教育に繋がる一助を担えればと考えて調査、試験を行った。

本年度は通常、日本において食中毒菌の検出には食品衛生検査指針（微生物編）に基づき、培養法で試験を行い、得られた結果から考察を行った。そのため、プロジェクト1、2年は培養法に基づき試験を行い、試験に利用した発酵食品ほぼすべてでいずれかの食中毒菌が検出されるという結果を得た（こ

これらの結果は論文で報告済み)。しかし、培養法は培地が高額な上、現地では入手困難な材料もあるなど、現状のカンボジア王国での利用は難しい。

この様な状況を踏まえて信頼性、簡便性、低価格で運用するための基盤づくりのため、試料から得られた DNA を用いた PCR 法の検討を行った。

また、現地のウェットマーケットで販売されるホームメイド製品は微生物汚染が深刻な状況にあることが明らかであったことから、ホームメイド製品の一般的な加工（調理）手順に従って作成したピクルスの微生物学的品質について検査し、製造方法に関する問題点について検証した。

1) DNA を用いた PCR 法の検討

a. 材料

2019 年（21 試料）および 2020 年（20 試料）にカンボジア王国コンポンチャム州またはプノンペン市内の市場にて販売されている野菜または果物の漬物を購入、現地でエタノール処理を行い、乾燥物を用いて以後の試験に供した。

b. 方法

(a) DNA 抽出

試料に SDS 溶液を加え、沸騰水浴中で加熱することにより DNA を抽出した。次にエタノール沈殿法にて得られた DNA 溶液から部分精製 DNA を回収した。TE 溶液で DNA を可溶化後、吸光度法にて DNA の精製度および濃度を確認した。

(b) PCR 増幅性の確認

すべての細菌が DNA 上の遺伝子として保持する 16S rRNA 遺伝子を指標とし、PCR 増幅を行った。なお、増幅性の有無は電気泳動後、染色し、紫外線照射下でバンドを確認、適切な位置にバンドがあることで PCR 増幅性の判断を行った。

(c) 食中毒菌検出試験

様々な文献から各食中毒検出用のプライマーを選抜し、試験に供した。なお、対象菌種として大腸菌、サルモネラ菌、セレウス菌、黄色ブドウ球菌を選択した。

検出の手法は先の PCR 法と同様にプライマーを各菌種特異的なものにした他は常法に従い試験を進めた。

2) 漬物製品の試作

自家製ピクルスとして代表的なきゅうりのピクルスおよびマスタードのピクルスをカンボジア家庭で伝承される調理方法および材料に従って作成した。調味料である塩、砂糖、魚醤、大豆醤油については、カンボジアで販売されているものを使用した。その他の材料については国内で購入した。マスタードは入手困難であったため、青梗菜を代替品として使用した。作成後のピクルス試料の諸性質（pH、塩分、糖分）ならびに微生物学的品質について検討した。

(3) バイオエネルギーの開発

カンボジア王立農業大学内にある 3 連のメタン発酵槽（図 1 参照）を利用して、2019 年 1 月から 2020 年 1 月までの期間、ガス流量を経時的に計測するとともに、メタン、二酸化炭素、硫化水素の濃度を継続して測定した。発酵槽の Digester 1 では、実験の開始当初から 2019 年 3 月までは家畜糞と加水量を 1:2 に設定したが、2019 年 4 月より家畜糞と加水量を同量の 1:1 に設定して濃度を上昇させた。



図 1 王立農業大学内の 3 連メタン発酵槽

発酵槽 Digester 2 および 3 においては、2019 年 7 月の実験開始より、家畜糞と加水量を同量の 1:1 に設定して測定を行った。これらの実験結果について詳細をまとめ、農村における代替エネルギーの可能性について検討した。

(4) 持続可能な農村開発

研究対象地であるコンポンチャム州における持続可能な農村開発を目指して、Project Cycle Management (PCM) 手法における問題分析と目的分析を進めて、社会実装に向けた課題を整理した。

7. 研究成果

(1) 食品加工

1) 青パパイヤピクルスの試作

青パパイヤのピクルスは、漬け液の配合割合を調整し 3 つの試作品が完成した。試作①は日本人好みの酸味が強いピクルス、試作②は①をベースに酸味を軽減させるため食酢を減らし pH4.6 以下になるように調整したピクルス、試作③は現地の味を模作して且つ pH4.6 以下になるように調整したピクルスである。それぞれの pH, Brix 糖度および塩分濃度は、試作①は pH 3.15, Brix 14.7 °, 0.84 %, 試作②は pH 3.60, Brix 13.2 °, 0.75 %, 試作③は pH 3.50, Brix 24.2 °, 5.27 %を示し、何れも pH 4.6 以下となり大半の食中毒菌が生育できない条件であることが確認された。また、真空度は-14~-29 kPa を示し、ビンにより異なっているものの概ね真空度が高い条件で試作することが出来た。現地および本学（東京農業大学在籍の留学生を主として対象）にて行った試食会の結果から、試作したピクルスは概ね高評価を得た。食感や塩味に関するコメントや現地で販売されている漬物製品を参考に、今後、味（得意に減塩）や食感を改良したピクルスが求められる。

2) 乾燥青パパイヤの開発

本年度は復水特性を中心に測定・解析を行った。生試料を乾燥させた乾燥パパイヤ（サンプル 1）、ブランチングした試料を乾燥させた青パパイヤ（サンプル 2）を試料として用いた。いずれの試料も浸漬時間の経過とともに含水率は滑らかな曲線を描きながら増加した。いずれの試料においても、浸漬温度が高いほど復水速度は速かった。また、いずれの浸漬温度においても、サンプル 2 の乾燥速度がサンプル 1 よりも遅かった。これは試料の組織構造や表面硬度の違いが影響していると考えられる。

復水時における試料の含水率変化は、いずれの試料、浸漬温度においても、以下の指数モデル（式(1)）で近似できた。また、式(1)における復水速度定数は浸漬温度が高くなるほど大きくなり、復水速度定数の温度依存性は Arrhenius 型の式で近似できた。

$$\frac{M - M_s}{15 - M_s} = \exp(-k_3 t_{WA}) \quad (1)$$

ここで、 M : 含水率 % (d.b.), M_s : 飽和含水率 % (d.b.), t_{WA} : 復水時間 (min), k_3 : 復水速度定数 (1/min), 15: 復水時の初期含水率 % (d.b.) である。

3) タロイモチチップスの試作

試作したサンプル A～C を図 2 に示す。



図 2 試作したタロイモチチップス (左：サンプル A, 中央：サンプル B, 右：サンプル C)

見た目、硬さ、香り、総合の 4 項目に関して、嫌い (1 点)、好きじゃない (2 点)、普通 (0 点)、好き (1 点)、とても好き (5 点) の 5 段階で、各サンプルを評価した。評価結果 (各試料の各項目の平均値) を図 3 に示す。

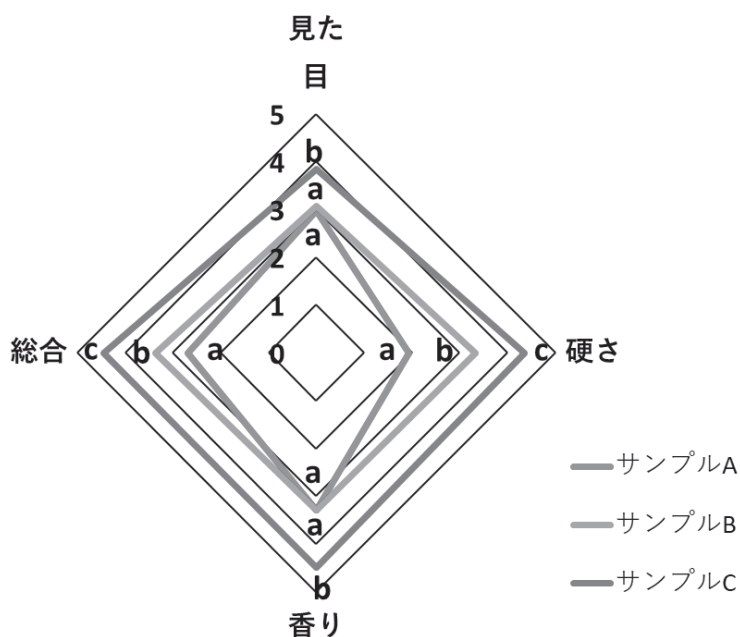


図 3 試作したタロイモチチップスの官能評価結果

図 3 における各評価項目において、異なるアルファベットは有意差が認められたことを示している。油で揚げたタロイモチチップス (サンプル C) の評価が最も高かった。油で揚げていない、熱風乾燥法により試作したサンプル A とサンプル B は硬く、硬さの評価が低かった。硬さも含め、サンプル B の評価はすべての項目で 3 点を超えており、概ね受け入れられた。今回は 2 mm および 3 mm の厚さに成型したタロイモを乾燥させたが、厚さをより薄くすれば受入度が増す可能性があることが示された。

(2) 食品衛生

1) DNA を用いた PCR 法の検討

a. 結果

(a) PCR 増幅性

供試したすべてのサンプルに於いて抽出 DNA は質、量ともに十分であり、16S rRNA 遺伝子の増幅を確認した。このことから、以後の試験に抽出 DNA は利用可能であることが確認された。

(b) 各種病原菌の検出

2019 年の 22 試料において大腸菌、サルモネラは検出されず、セレウス菌はすべてで確認された。また、黄色ブドウ球菌 1 試料で確認された。

2020 年の試料では大腸菌は 20 試料中 1 試料でサルモネラは同様に 2 試料で、セレウス菌は 20 試料中、19 試料で確認された。また、黄色ブドウ球菌は 5 試料で確認された。

b. 考察

2019 年の試料より 2020 年の試料の方が汚染状況は高い傾向にあり、かつ、すべての試料がセレウス菌を主とした食中毒菌に汚染されていた。今回、指標とした微生物の生息域を考えると、セレウス菌は土壌など様々な地域に生息する一方で、大腸菌やサルモネラはそれぞれ哺乳類の腸管、家禽類の腸管に生息し、黄色ブドウ球菌はヒトの皮膚表面常在菌である。これらのことから、汚染源として考えられるのは原料の洗浄不足または保管時の衛生環境が主に考えられる。そのため、食中毒を防ぐには製造者に対する衛生教育が必要と考える。

2) 漬物製品の試作

きゅうりのピクルス（魚醤入り）、きゅうりのピクルス（魚醤なし）、青梗菜のピクルスの 3 種類を作成した。ピクルス試料の pH は 3.60~4.33 程度、塩分濃度は 1.8~5.4 % 程度、糖度は 5.2~12.1 Brix % 程度であった。pH については、試作品によっては中性付近となる場合があった。完成したピクルスの開封直後の一般生菌数は $10^6 \sim 10^7$ cfu/g であり、大腸菌群数はきゅうりのピクルスが $10^5 \sim 10^6$ cfu/g、青梗菜のピクルスは大腸菌群陰性となる場合と陽性となる場合があった。真菌数は、全てのピクルスにおいて 10^4 cfu/g であり、青梗菜のピクルスにはカビが発生した。出現したコロニーの目視観察では、食品に不適合と思われる微生物種の存在も認められた。次に、常温保管中の品質の変化について明らかにするため、これら試料を開封し空気曝露したサンプル、試料に対し大腸菌懸濁液を添加し疑似汚染(大腸菌 $10 \sim 100$ cells 程度)させたサンプルを作製した。微生物検査の結果、空気曝露したサンプルの一般生菌数は $10^4 \sim 10^7$ cfu/g であった。疑似汚染サンプルでは大腸菌群陰性となったサンプルもあったが、他のサンプルでは $10^2 \sim 10^7$ cfu/g の大腸菌群数が検出された。作成したピクルスには未加熱食品における一般生菌数検出量の上限の目安以上の微生物が含まれ、大腸菌群の陽性が認められるものが多かった。また、酵母やカビが発生しており、安全性が高いとは言い難く、加工手順を見直す必要がある。また、製品の保管中の静菌効果は期待できないことから製品設計についても安全性および品質向上を念頭にした再考が必要であると考えられる。

(3) バイオエネルギーの開発

カンボジア王立農業大学内にある 3 連のメタン発酵槽を利用して、2019 年 1 月から 2020 年 1 月までの期間、ガス流量を経時的に計測するとともに、メタン、二酸化炭素、硫化水素の濃度を継続して測定した。実験の結果、図 4 に示したように家畜糞と加水量を同量の 1:1 に設定して濃度を上昇させた発酵槽 Digester 2 と 3 においては、家畜糞 1 kg 当たり日量約 40 L のバイオガスを発生させることが明らかとなった。しかし、実験の開始当初から 2019 年 3 月までは家畜糞と加水量を 1:2 に設定した Digester 1

では、家畜糞 1 kg 当たり日量約 25 L のバイオガスを発生するに留まっており、その後に家畜糞と加水量を同量の 1:1 に設定し直したが、家畜糞 1 kg 当たり日量約 17 L から 42 L の範囲内を大きく変動しており、発酵は安定しなかった。

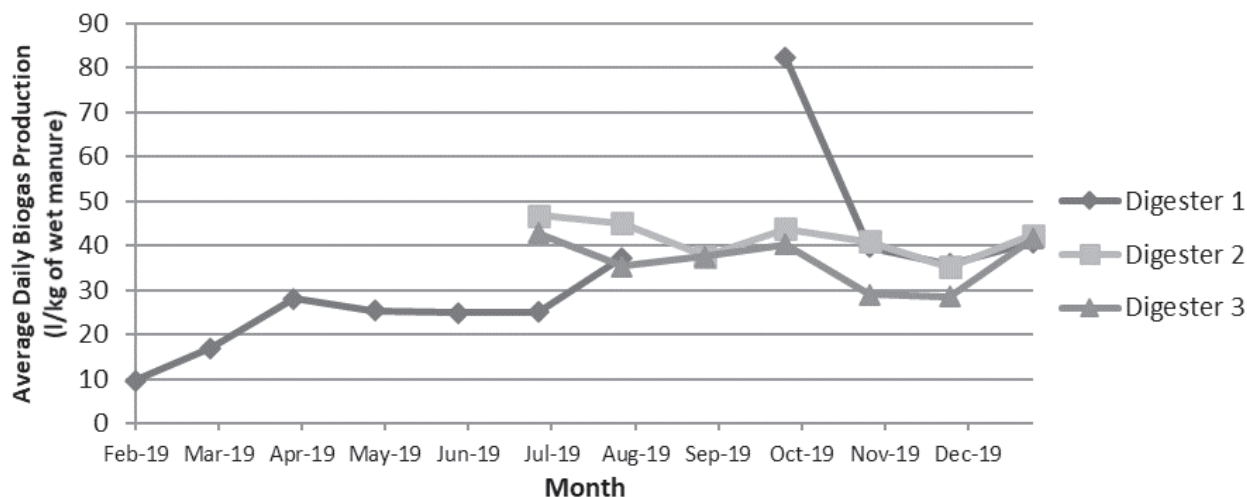


図 4 各発酵タンクにおける家畜糞 1 kg 当たりバイオガスの生成量

表 1 バイオガスにおけるメタン、二酸化炭素、硫化水素濃度

Month	Digester 1					Digester 2					Digester 3				
	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	H ₂ S (ppm)	Bal (%)	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	H ₂ S (ppm)	Bal (%)	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	H ₂ S (ppm)	Bal (%)
Jul-19	48.8	35.0	1.1	410.5	14.6	50.7	35.3	0.3	446.5	13.8	50.9	35.6	0.2	503.0	13.4
Aug-19	48.2	36.2	0.6	410.0	14.6	51.2	38.3	0.3	273.1	10.1	51.3	38.6	0.3	265.4	10.1
Sep-19						51.1	41.6	0.4	115.6	6.1	51.1	41.6	0.4	115.6	6.1
Oct-19	51.9	38.4	0.1	751.7	9.7	49.4	40.2	0.2	169.7	10.2	49.0	39.0	2.0	242.6	9.9
Nov-19	52.5	39.3	0.1	692.4	8.1	50.0	40.6	0.1	299.6	9.3	50.4	41.3	0.1	584.6	8.2
Dec-19	55.4	42.2	0.2	722.0	2.2	54.9	41.9	0.1	740.3	3.1	54.6	41.3	0.0	936.1	2.3
Jan-20	54.3	43.3	0.1	637.5	2.8	53.2	42.4	0.2	693.3	4.2	53.8	43.3	0.1	897.5	2.7
Average	51.8	39.1	0.4	604.0	8.7	51.5	40.0	0.2	391.2	8.1	51.6	40.1	0.4	506.4	7.5

併せて、得られたバイオガスにおけるメタン、二酸化炭素、硫化水素濃度の経時変化を表 1 にまとめた。その結果、家畜糞と加水量を同量の 1:1 に設定した場合、全ての発酵槽においてメタンの占める割合が約 50% であり、硫化水素の濃度は 400 ppm から 1000 ppm の範囲内であることが分かった。

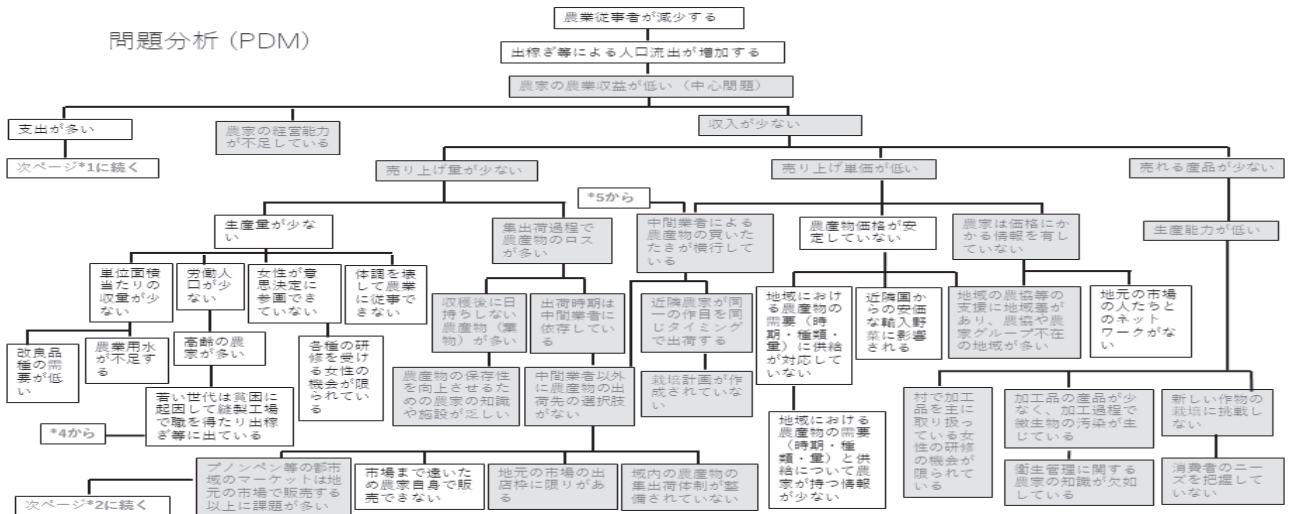
これらの実験結果より、家畜糞と加水量の比は同量の 1:1 に設定することが好ましく、家畜糞 1 kg 当たり日量約 20 L のメタンガスが燃料として得られ、代替エネルギーとして使用できると判断できた。

(4) 持続可能な農村開発

Project Cycle Management (PCM) 手法では、Project Design Matrix (PDM) と呼ばれるプロジェクト概要表を作成して、開発プロジェクトの計画立案・実施・評価といった一連のサイクルが運営管理される。Project Design Matrix (PDM) を構成する因子を求めるものが、問題分析と目的分析である。ここではこの問題分析と目的分析を実施して、研究対象地であるコンポンチャム州における持続可能な農村開発を目指し、研究成果の社会実装に向けた課題を整理した。

図5に示した問題分析の結果からは、農業収入に対する化学肥料や農薬等の農業資材への支出が大きいものの、農家による収支記録がなされておらず、現状の定量的な把握が困難であった。ポルポト政権の影響があり対象地域における40歳以上の現地農家における識字率が低いためであるが、課題としてはファーマーズスクール等を開いて基本的な読み書きや算数の普及が急務であると判断できた。

併せて、農産物や加工品に関する課題としては、生産基盤におけるものと農産加工品に関する課題に大別できた。生産基盤に関しては、如何に化学肥料や農薬への依存度を低減させて自然資源に由来した循環型農法に転換できるかが課題である。一方、農産加工品に関しては加工、流通、販売過程における衛生管理の問題が大きいことが明らかとなった。加えて、現地農家は主に中間業者に農産物や加工品を出しているが、集出荷体制を整えるとともに多様な販売先を持つこと、またそれらを進める過程で如何に農村における女性人材の活用を図るかが、課題として整理された。



問題分析 (PDM) 続き

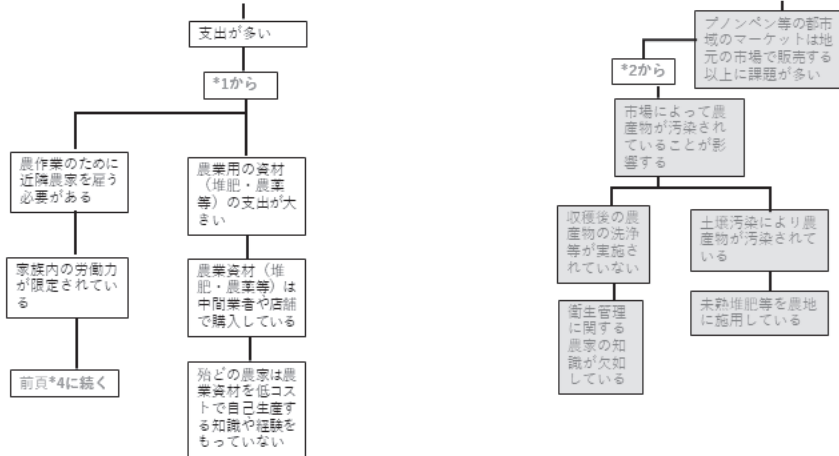


図5 PCMにおける問題分析の結果

問題分析に続いて目的分析を実施し、図6に示したように整理できた。先ず全体を通して、自然資源の有効利用と効率的な農業経営が上位の目的として整理された。その上位目的を達成するためには、現地農家が周りの自然資源を有効利用し農業支出を抑えるとともに、収支を記録し農業による純利益を明確化すること、更に農産物および加工品の生産にあたり衛生管理を含めた高い技術を修得して実践していくこと、また中間業者のみならず多様な販路を開いて農業収入の向上を図るなどが、必要なアウトプ

ットとして整理された。

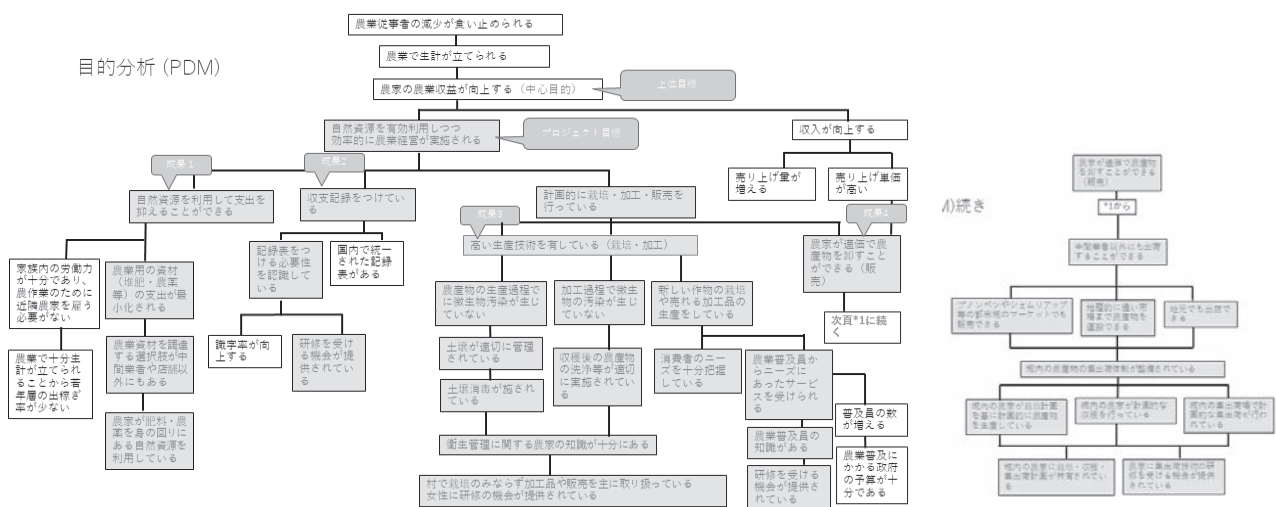


図6 PCMにおける目的分析の結果

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年度は COVID-19 の感染拡大の影響で、現地（カンボジア）へ出向くことができず、3年目計画を当初のとおりに遂行できなかったところもある。次年度以降も本プロジェクトテーマを何らかの形で継続していくことを検討している。

(1) 食品加工

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

(2) 食品衛生

本年はコロナの影響でサンプリングにカンボジアに行くことができず、また、前期に実験をすることができなかったため、目標であった多菌種同時検出法の確立までにはいかなかった。これまでカンボジア王立農業大学の多大なるサポートをして頂いているため、来年度は各自の研究費を捻出して研究を継続する予定である。

また、今後は、コンポンチャム州で実際に行われている漬物加工施設の見学、または聞き取り調査を実施して、加工法やレシピ、衛生状況などの調査・情報収集を行うことが必要である。これらの調査・情報収集により、カンボジア現地に必要な衛生改善策を提案し、衛生指導につなげていくことができると考えている。また、RUA など大学で運用可能な低コストで簡便な衛生状況把握試験を提案する必要もある。ホームメイド製品のピクルスの製造については、食味を損なわない食品添加物の使用や加工原料

の次亜塩素酸消毒などの工程を加えることで安全で衛生的な製品になると期待できる。衛生面に特化したピクルスの製造工程の検討も食品衛生の意識改善に有効である。

(3) バイオエネルギー

カンボジア王立農業大学内にある3連のメタン発酵槽を利用して、2019年1月から2020年1月までの期間、ガス流量を経時的に計測するとともに、メタン、二酸化炭素、硫化水素の濃度を継続して測定した。その実験の結果、家畜糞と加水量を同量の1:1に設定することが好ましいことが明らかになるとともに、その条件下では家畜糞1kgあたり日量約20Lのメタンガスが燃料として得られ、代替エネルギーとして使用できると判断できた。残された課題としては硫化水素の発生を抑える方法の解明である。

(4) 持続可能な農村開発を目指して

研究対象地であるコンポンチャム州における持続可能な農村開発を目指して、Project Cycle Management (PCM) 手法における問題分析と目的分析を進め結果、自然資源の有効利用と効率的な農業経営が上位の目的として整理された。その上位目的を達成するためには、現地農家が周りの自然資源を有効利用し農業支出を抑えるとともに、収支を記録し農業による純利益を明確化すること、更に農産物および加工品の生産にあたり衛生管理を含めた高い技術を修得して実践していくこと、また中間業者のみならず多様な販路を開いて農業収入の向上を図ることなどが、必要なアウトプットとして整理された。現地のカンボジア政府、特に農林水産省、環境省や商業省との連携のもと、普及的展開が期待される。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) SHUKI MURAMATSU, MASATAKA UCHINO, YURI TANIKOKA, SOKLY SORM, DAIKI OKA, YOSHIKI MURAMATSU, TORU NAKAJIMA, MOTOE SEKIDO, TAKAHIKO NAKAMURA, CHIM CHAY, MACHITO MIHARA. 2020. Evaluation of Bacterial Contamination level in Pickles Sold at Wet Market in Cambodia - Part 1- in case of the samples from Kampong Cham and Phnom Penh, International Journal of Environmental and Rural Development, 11(1), 114-119.
- 2) SHUKI MURAMATSU, MASATAKA UCHINO, SOKLY SORM, YURI TANIKOKA, DAIKI OKA, YOSHIKI MURAMATSU, TORU NAKAJIMA, MOTOE SEKIDO, TAKAHIKO NAKAMURA, CHIM CHAY, MACHITO MIHARA. 2020. Evaluation of Bacterial Contamination Levels in Pickles Sold at Wet Market in Cambodia -Part 2- Detection of Several Food-poisoning Bacteria of 48 samples from Phnom Penh, International Journal of Environmental and Rural Development, 11(1), 120-124.
- 3) SOKLY SORM, YOSHIKI MURAMATSU, DAIKI OKA, YURI TANIKOKA, MASATAKA UCHINO, SHUKI MURAMATSU, MOTOE SEKIDO, TAKAHIKO NAKAMURA, TORU NAKAJIMA, EIICHIRO SAKAGUCHI, SHOTARO KAWAKAMI, CHIM CHAY, MARI ARIMITSU, MACHITO MIHARA. Evaluation of the Acceptability of Cashew Apple Jam in Cambodia, International Journal of Environmental and Rural Development, under article submission.
- 4) SOKLY SORM, YOSHIKI MURAMATSU, EIICHIRO SAKAGUCHI, SHOTARO KAWAKAMI. Development of Dried Young Papaya- Moisture Content Prediction of Dried Young Papaya during Drying and Water Absorption-, International Journal of Environmental and Rural Development, under article submission.

学会発表

- 1) SOKLY SORM, YOSHIKI MURAMATSU, DAIKI OKA, YURI TANIKOKA, MASATAKA UCHINO, SHUKI MURAMATSU, MOTOE SEKIDO, TAKAHIKO NAKAMURA, TORU NAKAJIMA, EIICHIRO SAKAGUCHI, SHOTARO KAWAKAMI, CHIM CHAY, MARI ARIMITSU, MACHITO MIHARA. Evaluation of the Acceptability of Cashew Apple Jam in Cambodia. The 12th International Conference on Environmental and Rural Development, 5-6 March, 2021 (Online).
- 2) 関戸元恵、村松朱喜、中川裕子、仲尾玲子、内野昌孝. カンボジア王国プノンペンマーケットで販売される漬け物の衛生調査、日本食品保蔵科学会第 69 回大会 (2020 年 6 月 20 日).

2020年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者 山内 淳

1. 研究課題名および予算額

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

2. 研究組織

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

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景

厚生労働省が推進する「21世紀における国民健康づくり運動」は、生活習慣を改善し、健康を増進し生活習慣病等の発病を予防する“一次予防”を基本方針としており、健康寿命の延伸および生活の質の向上を実現する上で、食生活が果たす役割はますます重要となっている（図1）。

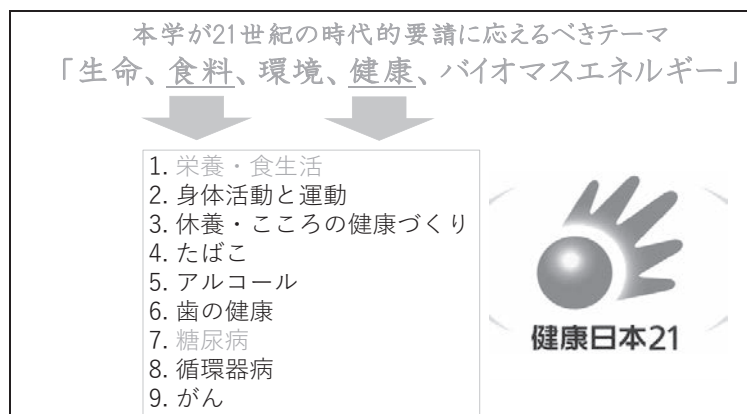


図1.本学が時代的要請に応じるべきテーマと健康日本21

このような情勢の下、消費者庁は2015年4月より、第3の保健機能食品として機能性表示食品制度を開始した。これは特定保健用食品、栄養機能食品以外のいわゆる健康食品をはじめとする保健機能を有する成分を含む加工食品および農林水産物について、機能性の表示を容認する新たな方策を検討したもので、米国のダイエタリーサプリメントの表示制度を参考にして企業責任で科学的根拠のもとに表示できるものである。制度開始から5年で製品の届出数が3000件を超える勢いである。機能別に分類すると、ダイエット、ストレス軽減、腸内環境の改善、肌の機能維持、記憶力の維持、抗酸化など多岐にわたっている。我が国の食品関連の研究の方向性は食品の新規の機能性の開発に向かっていると考えられる。すなわち機能性表示食品の開発を行うことが、本学が重点項目として挙げている食料、健康に関する研究に他ならない(図2)。



図2 我が国の保健機能食品制度の概要

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

本研究はこれをさらに発展させ、アジアを中心とする世界各地から薬草を採取し、それらの抽出物の機能性・安全性について網羅的に評価することによって、将来的には新規の機能性表示食品の開発を目指すものである(図3)。

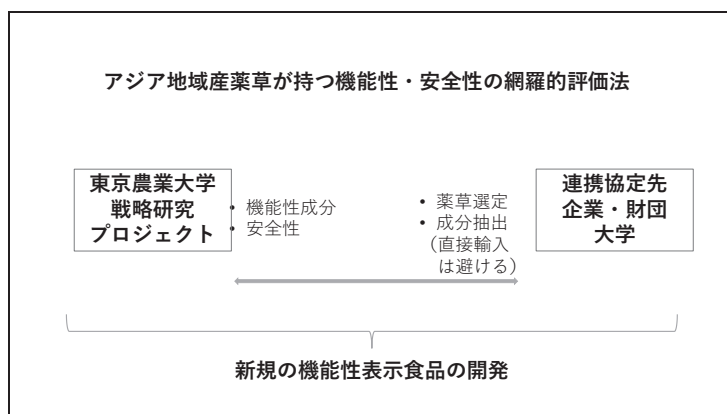


図3 機能性・安全性の網羅的評価法

5. 研究目的

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

6. 研究（実験）方法

チロシナーゼ阻害活性評価:チロシナーゼとその基質であるL-ドーパを96穴プレート上で反応させ、生成されるドーパクロムを492nmの吸光度で測定し、チロシナーゼ阻害率を算出した(図4)。試験試料として50%EtOHで抽出した天然物スクリーニングソースを用いた。また種々のクロマトグラフィーにより活性成分の精製を行なった。

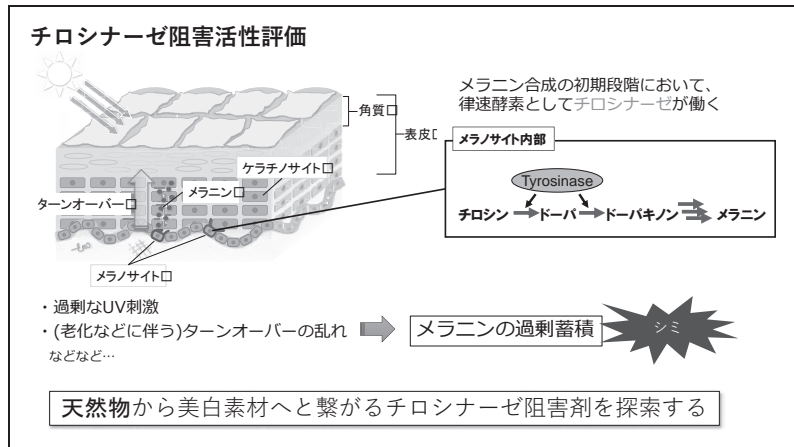


図4 チロシナーゼ阻害活性の評価法

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

AMPK 活性評価：AMPK は細胞内エネルギー恒常性に関与するキナーゼであり、試料における AMPK 活性化能を評価する。既存の AMPK 活性化剤を指標として、蛍光標識法による AMPK 活性評価法の確立を行った。培養細胞を固定化後、AMPK の基質である ACC のリン酸化抗体を用いて抗原抗体反応を行い、これを蛍光標識法による検出を試みた。この他に、50%EtOH にて抽出した各種試料を HEK293T 細胞に添加し、western blotting 法または蛍光標識法にて AMPK の活性状態を評価した（図 5）。

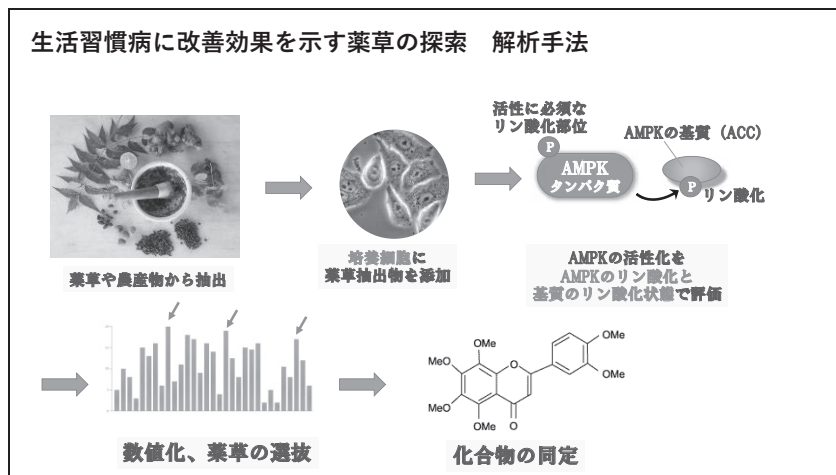


図 5 AMPK を活性化する因子の解析方法

抗酸化活性を用いたスクリーニング：96 穴プレートにて紫色の DPPH ラジカルが補足されると無色に退色することを利用し 517 nm の吸光度を測定し、ラジカル捕捉活性を測定し各サンプル 50 $\mu\text{g/mL}$ の抗酸化活性スクリーニングを行った。プルメリア(花)、ムクナ(皮)、ムクナ(豆)、クロコショウ、ウコン、シクシャ①、ノニおよびシクシャ②のラジカル捕捉活性を測定し同様に希釈し抗酸化活性スクリーニングを行った。また、高い抗酸化活性を有するサンプルでは IC_{50} 値の算出を行った（図 6）。

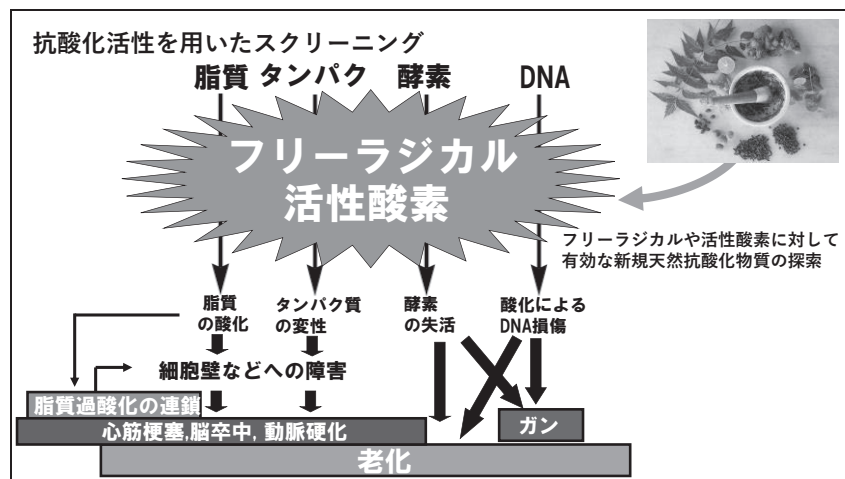


図 6 抗酸化活性を用いたスクリーニング

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

7. 研究成果

チロシナーゼ阻害活性評価：昨年度報告したシナモン抽出物に加えて、今回新たに強いチロシナーゼ阻害活性を持つサンプルとして、シュクシャ、ウコンの抽出物がヒットした。そこで、各サンプルから種々のクロマトグラフィーを用いて活性成分の単離を試みた。その結果、シュクシャ抽出物から catechin、epicatechin、quercetin を活性成分として単離した（図7）。今回単離した3化合物はいずれもチロシナーゼ阻害活性が報告されており、新規活性成分の報告とはならなかった（図7、8）。シュクシャ抽出物中の精製の過程で、今回発見した3化合物とは別の画分にも活性を確認しており、現在構造解析中である。またウコンの抽出物に関しては活性成分の単離精製を行なっている。

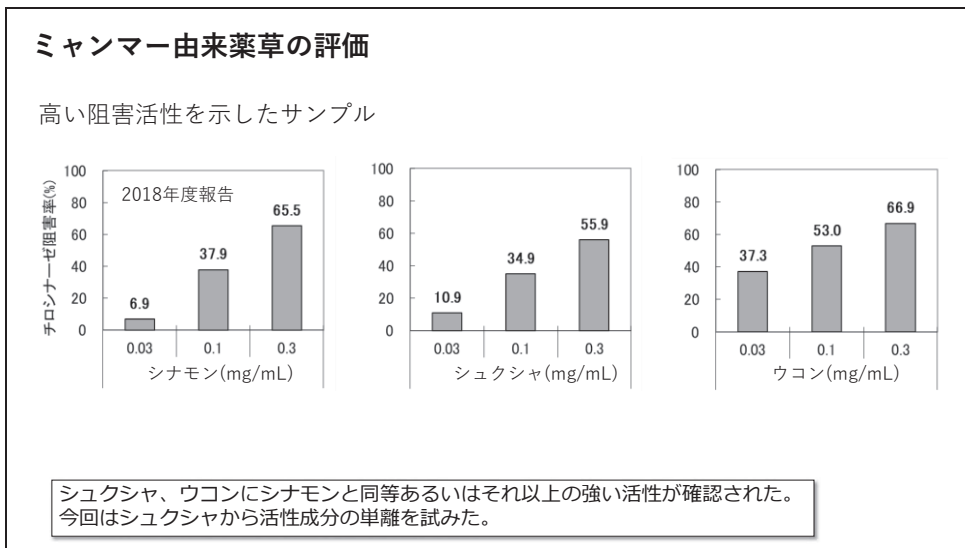


図7 シュクシャ、ウコン、シナモンに強い活性が確認された。

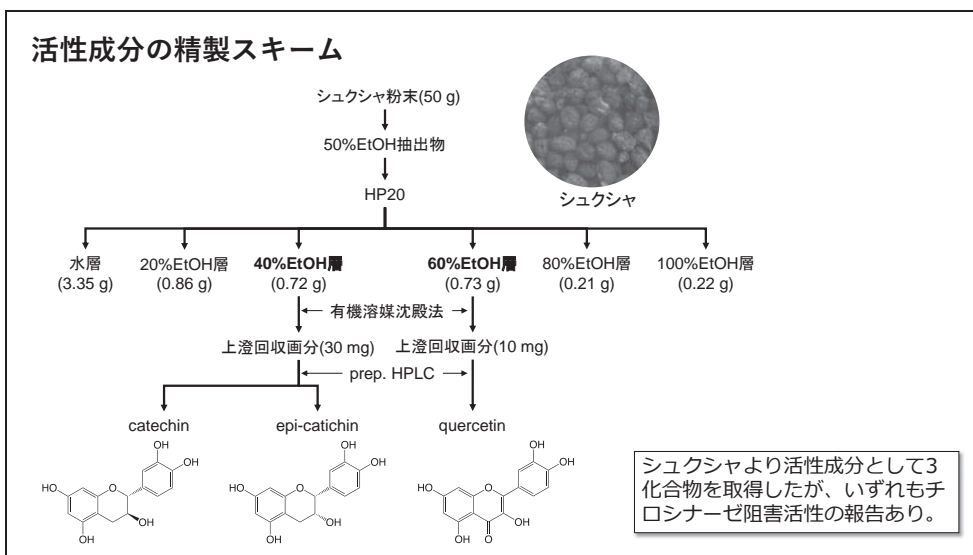


図8 シュクシャから活性成分の単離を試みたところ、既知の成分であるカテキン、エピカテキン、ケルセチンであった。

脂肪細胞分化抑制評価：昨年度のスクリーニングにより活性の見られたマンゴーの種子抽出物から活性成分の単離を試みた。種々のクロマトグラフィー（図9）により、活性成分として gallic acid、ethyl gallate、ethyl digallate、1,2,3,4,5-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose(PGG)、3-*O*-digalloyl-1,2,4,6-tetra-

O-galloyl- β -D-glucose を単離した。そのうち gallic acid と PGG に関しては既に活性が報告されていたが、その他の 3 化合物に関しては報告がなく、新たに脂肪細胞分化抑制活性化合物として見いだすことが出来た (図 10)。また、活性成分の単離精製と並行して、今年度新たに取得したサンプルの評価もを行い、ウコンの抽出物に強い活性があることを確認した。

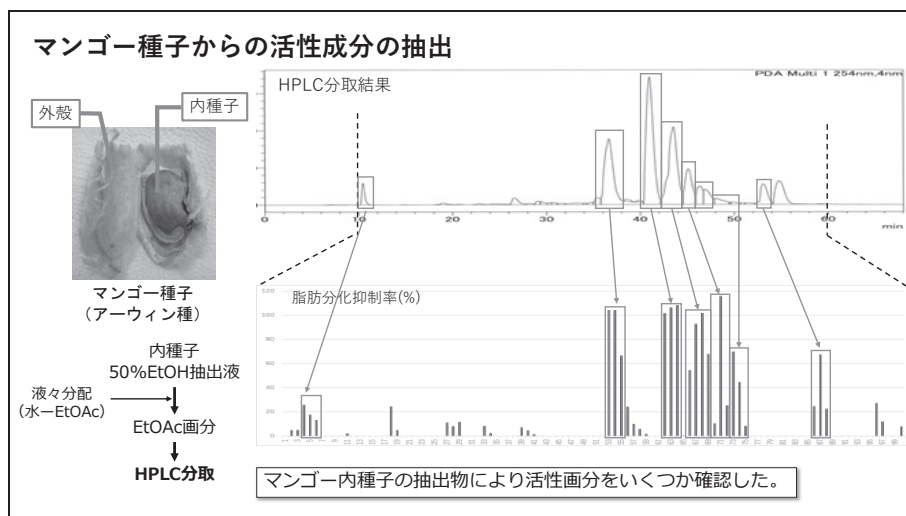


図 9 マンゴー種子からの活性成分の抽出

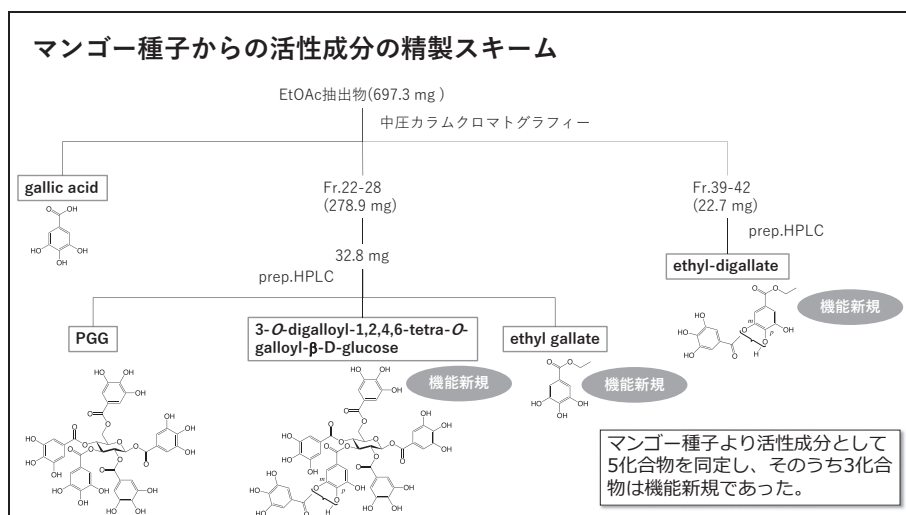


図 10 マンゴーの種子抽出物から活性成分の単離。3つの新規化合物を同定した。

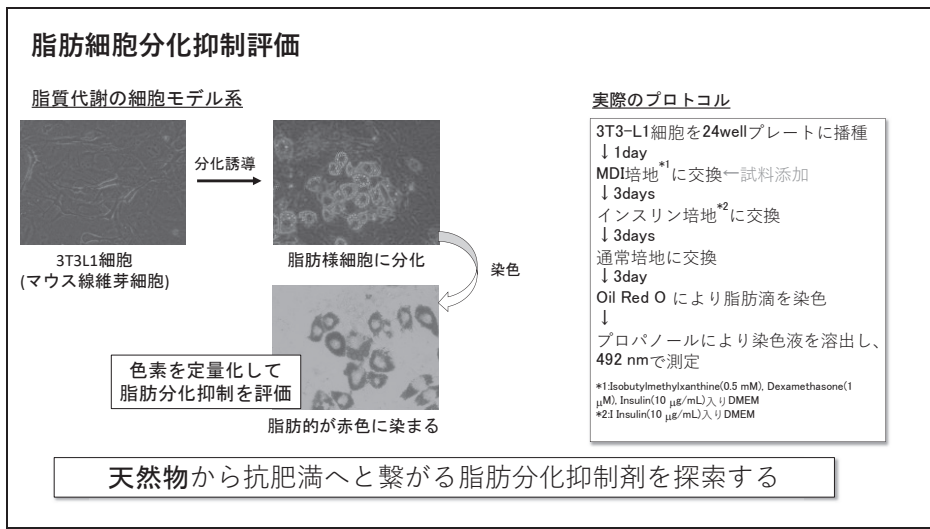


図 11 脂肪細胞分化抑制評価法

AMPK 活性評価：昨年度のスクリーニングにより AMPK の活性化が認められたピスタチオの殻において、活性成分の単離を試みた。種々のクロマトグラフィーにより、活性成分は既に AMPK の活性化能を有することが報告されているプロシアニジン類である可能性が示された。この他に、いくつかの天然物スクリーニングソースを試したところ、ケニア産の kunde (ササゲ) やケールの葉において AMPK の活性化を上昇させる結果が得られた。また、kunde の葉においては脂溶性画分において AMPK の活性化に関与する成分が含まれていることが示された (図 12)。

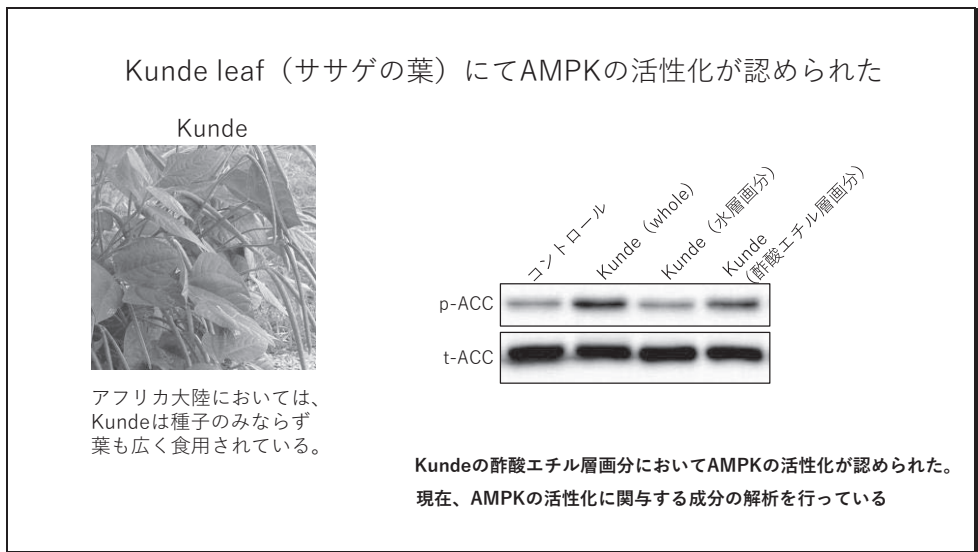


図 12 ササゲ葉の脂溶性画分に AMPK 活性化成分が含まれている

抗酸化活性を用いたスクリーニング：本年度、新たにとげ芋などの 16 の植物抽出物サンプルに対し DPPH ラジカル捕捉活性スクリーニングを行った。その中で *Brassica*, Leaf および *Brassica*, Vein が DPPH ラジカル捕捉活性を有していることが明らかになった (図 13)。

DPPHを用いたスクリーニング

No. 29	No. 31	No. 32	No. 33
シーベリー皮+種子 (モリモリナーヤ)	ブルーベリー皮 (スバルタン)	興津早生 皮	興津早生 果実
++	++	++	++

No. 46	No.67	No. 68
ムクナ (豆)	Brassica, Leaf	Brassica, Vein
++	++	++

これまでの検討から以上の7つのサンプルが抗酸化活性を有していることが明らかになった。
現在、これらのサンプルの活性成分の精製単離を行っている。

図 13 Brassica (カラシナ) の茎と葉に抗酸化能をもつ成分が含まれている

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

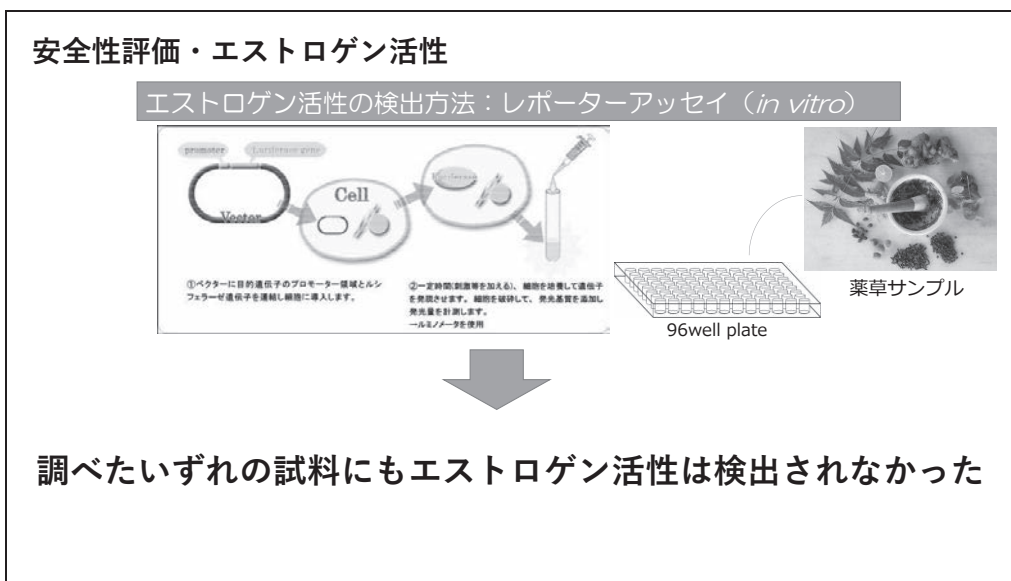


図 14 安全性評価

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

チロシナーゼ阻害活性評価：シュクシャ抽出物中から見つかった活性画分の精製と構造解析を引き続き行なっていく。またウコンの抽出物からも活性成分の単離精製を行う予定である。

脂肪細胞分化抑制評価：今後はマンゴー種子の抽出物から単離した活性化合物が、どのようにして脂肪細胞の分化を抑制しているかの作用機序を解析していく。具体的には脂肪産生に関わる PPAR や

CEBP1 といった分子の変化を確認していく予定である。また新たに活性を確認したウコンの抽出物から活性成分の単離精製を行う予定である。

抗酸化活性を用いたスクリーニング：これまでの研究結果から、抗酸化活性の認められたムクナおよび Brassica については活性成分の精製単離を進めていく予定である。また、ムクナおよび Brassica の β アミロイド ($A\beta$) ペプチドの凝集阻害活性に関しても現在検討中である。

総括

これまでの研究によって、アジア地域のみならず世界中の食品素材から生物活性を示す成分を複数見出してきた (表1)。随時成果を公表していく。本研究チームは 96 ウェルマルチウェルプレートを用いたハイスループットなアッセイ系が持ち味である。今後この研究チームを中心に積極的に外部資金を調達してゆく予定である。

表1 それぞれのアッセイ系に共通した活性を持つ試料のまとめ

各アッセイにおける活性の有無と試料の関係													
	シナモン	生姜	gynuherb	ブルメリア (花)	ムクナ (皮)	ムクナ (豆)	クロコショウ	ウコン	シュクシャ	ノニ	とげ芋 (沖縄)	とげ芋 (ミャンマー)	Managu, Esibuya Market
チロシナーゼ阻害活性	+++	-	+++	++	-	+++	-	+++	+++	-	-	-	-
脂肪細胞分化抑制	nd	nd	nd	-	+	-	+	+++	+	-	nd	nd	nd
生活習慣病改善効果	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
抗酸化活性	nd	nd	nd	-	+	++	-	+	-	-	-	-	-
エストロゲン活性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Amaranth, Luanda Market	Amaranth, Mbale Market	Kale, Mbale Market	Managu, Essunza	Kale, Essunza	Kunde, Mbale Market	Kunde, Essunza	Kale, Esibuya Market	Kunde, Luanda Market	Amaranth, Essunza	Brassica, Leaf	Brassica, Vein	マンゴー種子
チロシナーゼ阻害活性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脂肪細胞分化抑制	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+
生活習慣病改善効果	-	-	++	-	++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
抗酸化活性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	nd
エストロゲン活性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : 活性なし
 + : 活性あり
 ++ : 活性強い
 +++ : 活性極めて強い

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) AMP-activated protein kinase regulates alternative pre-mRNA splicing by phosphorylation of SRSF1. Matsumoto E, Akiyama K, Saito T, Matsumoto Y, Kobayashi KI, Inoue J, Yamamoto Y, Suzuki T. Biochem J. 2020 Jun 26;477(12):2237-2248. doi: 10.1042/BCJ20190894.
- 2) Niclosamide activates the AMP-activated protein kinase complex containing the β 2 subunit independently of AMP. Suzuki T, Kojima M, Matsumoto Y, Kobayashi KI, Inoue J, Yamamoto Y. Biochem Biophys Res Commun. 2020 Dec 17;533(4):758-763. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.09.071. Epub 2020 Sep 29. PMID: 32993962

3) AMP-activated protein kinase regulates β -catenin protein synthesis by phosphorylating serine/arginine-rich splicing factor 9.

Matsumoto E, Matsumoto Y, Inoue J, Yamamoto Y, Suzuki T. Biochem Biophys Res Commun. 2021 Jan 1;534:347-352. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.11.079. Epub 2020 Nov 25. PMID: 33248688

2020年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者 白木 彩子

1. 研究課題名および予算額

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

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	白木 彩子	生物産業学部 北方圏農学科・准教授	遠隔追跡・生息環境解析・全体総括
研究分担者	島田 沢彦	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	陸域被覆図作成
	園田 武	生物産業学部 海洋水産学科・助教	魚類の生息状況
	西野 康人	生物産業学部 海洋水産学科・教授	海域環境と一次生産
	舘山 一孝	北見工業大学 工学部 地球環境工学科・准教授	海域環境解析
	白岩 孝行	北海道大学 低温科学研究所 環オホーツク観測研究センター 准教授	アムール川・オホーツク海環境変動

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

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

オジロワシやオオワシ（以下海ワシ類）は、主にロシア極東の森林地帯で繁殖する希少猛禽類で、河川や湖沼などの内水域や海域の魚類、水禽類を主な餌とする最高次捕食者である。ロシア

極東で繁殖する海ワシ類の多くはロシア極東南部や北海道で越冬する渡り鳥で、とまり場や餌場として海氷のある海域を利用することも報告されている。そのため海ワシ類の生息環境の保全では、森林と内水域を主体とする陸域生態系と、食物連鎖において頂点に位置する海域生態系とが包括される。

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

5. 研究目的

先に述べた背景をふまえ、本プロジェクトは日露間の渡り鳥である海ワシ類の生息環境を指標として、陸・海域生態系の構造の解明と保全を目指すものである。その達成に向け、2020年度は以下の項目1)～6)を主な目的とした。

1) 遠隔追跡調査による、海ワシ個体の渡り移動経路と包括的生息地の特定

担当：白木彩子

協力者：pronketch, V. (IWEP FEB RAS), ウエキナ, I. (マガダン国立公園研究所)

2020年度の目的) これまでに得られた海ワシ個体の遠隔追跡調査において、海上を渡る個体のデータが少ないことから、2019年度に引き続き、日本に渡来する可能性の高いロシア極東のマガダン国立保護区内の繁殖地でオオワシの巣内雛を捕獲し、送信機を装着することとした。加古からの継続も含めて送信機装着個体の遠隔追跡調査を行い、GIS地図上で海ワシ類の渡り移動経路および中継地や越冬地などの生息地を特定する。

2) 陸域ベースマップ作成と陸海域における海ワシ類の生息環境特性の解析

担当：白木彩子・島田沢彦・舘山一孝・白岩孝行

協力者：池田寛美 (生物産業学研究科 博士前期課程)、鈴木裕斗 (地域環境科学部 生産環境工学科 4年)、村田悠大 (北見工業大学工学部 地球環境工学科 4年)

2020年度の目的) この項目では、1)で特定された陸海域の海ワシ類生息地の環境特性を解析し、未解明である広域的な潜在生息適地を推定することを目的としている。

まず、陸域においては生息解析に利用できる精度のGISベースマップの構築が必要不可欠であり、マップの最重要要素である高精度な土地被覆図を自作する必要がある。過去二ヶ年において、ロシア極東における遠隔追跡調査結果をもとにオジロワシの主要生息地域を対象に、Sentinel-2の衛星画像をもとにした土地被覆分類を実施してきたが、分類精度の低い被覆項目が

残された。そのため、2020年度はさらに分類手法の改善を試み、生息環境解析に適合する土地被覆図を完成させて Maxent モデル解析による潜在生息地推定を実施する。また、極東ロシア全域にわたる生息範囲を網羅するベースマップ構築に向け、2019年度は MODIS 画像（地上分解能 500 m）を用いたディープラーニングによる土地被覆分類を行ったが、いくつかの項目の分類精度が低かった。そこで 2020年度は、比較的高解像度の Sentinel-2 画像（地上分解能 20 m）を用いたディープラーニングによる土地被覆分類を試み、特に、オジロワシの生息環境評価に必要な湿地、疎林・低木林の分類精度向上を目指す。

海域では、衛星リモートセンシングデータと気象・海象の再解析データを用いた生息環境解析により、海ワシ類の生息地・渡り経路に関わる自然環境解析手法の確立と環境要因の解明に取り組む。また、海洋物理環境に基づく一次生産から餌生物種の分布推定に用いるための、海水分布や海洋物理特性に関するデータを整備する。

2) 潜在餌種の生息状況の把握と生息環境要件の抽出

担当 園田 武

2020年度の目的) 海ワシ類の餌場環境との対応関係を検討するために、網走周辺の海ワシ類の生息地にある水域において、魚類や底生生物の採集調査により、海ワシ類の潜在的な餌である魚類やその餌生物である底生生物などの生息分布を明らかにする。また、これまでの現地調査や資料調査の結果を整理し、北海道およびロシアのアムール川流域やオホーツク海域における、海ワシ類にとって重要な潜在餌種の分布を推定し、生息環境要件を抽出する。

4) 海洋環境に基づく、オホーツク海域一次生産力の推定

担当 西野康人・舘山一孝

2020年度の目的) オホーツク海域の一次生産力データの推定を行うために、能取湖にオホーツク海沿岸水塊の流入するタイミングで採水し、その一次生産力の測定を行う。この値と衛星データによるクロロフィル a 濃度の動態から算出した一次生産力との関係性を評価し、衛星データによる広域的な一次生産力の推定手法への応用を検討、試行する。

5) 小型船舶を用いたオホーツク海域生態系総合調査

担当 白木彩子・舘山一孝・西野康人

協力者 中川至純（生物産業学部海洋水産学科 教授）

2020年度の目的) 小型船舶を用い、海氷の渡去時期に網走沿岸の海域で物理環境、植物・動物プランクトン、海鳥類、海ワシ類の調査を同所的に実施し、各項目間の関係について検討する。

6) 極東地域における海ワシ類と陸海域生態系の越境的保全に関するワークショップの開催

担当：白木彩子 協力者：エフゲーニア，C.(生物産業学部北方圏農学科 准教授)

2020年度の目的) 2020年9月に予定されている日本鳥学会網走大会の日露国際シンポジウムに合わせ、研究成果発表や情報交換、協議の場としてロシア人研究協力者らを交えたワークショップ

プを開催し、海ワシ類やその生息基盤である陸海域生態系の保全と日露の協力体制構築の具体的な進展を図る。

6. 研究（実験）方法

1) 遠隔追跡調査による、海ワシ個体の渡り移動経路と包括的生息地の特定

2020年の繁殖期に予定していた、ロシアマガダンにおけるオオワシ巢内ヒナへのGPS送信機の装着調査は、コロナ感染拡大の影響で中止となった。

その代替調査として、2020年12月末と2021年1月初めに、北海道音威子府村の北海道大学中川研究林において、本プロジェクトで開発したネットランチャーを用いた罠（2019年度学内プロジェクト成果報告書参照）を用い、オオワシの成鳥2個体の捕獲に成功した。捕獲個体には、GPSデータロガー付き送信機を装着した。この送信機のロガー(記録装置)には一定時間おきに個体の位置情報（緯度経度、高度）や移動速度などが蓄積され、対象個体が携帯電話圏(3G回線)にいれば、ロガー内の情報がインターネットを通じて定期的に配信される。本調査では、通常時は2時間おきの位置情報が1日2回配信されるプログラム設定とした。

学内プロジェクト以外の研究で実施したものも含め、これまでにGPS送信機を装着して追跡調査を実施した海ワシ類に関する情報を表6-1-1)に整理した。インターネット上からこれらの海ワシ類の位置等の情報を入手し、GIS地図上に展開して渡り移動経路や中継地、越冬地を特定した。

表6-1)-1 2017年度から2021年年度にGPS送信機を装着した海ワシ類の沿革追跡調査の概要

ID	種	年齢	装着地	送信機装着年月日	追跡最終年月日 (2021年7月28日 確認分まで)	追跡期間
TK1601	オジロワシ	巢内ヒナ	アムール川中流	2017/6/13	2018/1/8	6ヶ月25日
TK1602	オジロワシ	巢内ヒナ	アムール川中流	2017/6/23	2017/7/22	30日
TK1801*	オジロワシ	巢内ヒナ	チュクチャギル湖	2018/7/13	2018/11/25	4ヶ月12日
TK1802*	オジロワシ	巢内ヒナ	チュクチャギル湖	2018/7/13	2021/5/25**	2年10ヶ月
TK1803*	オジロワシ	巢内ヒナ	チュクチャギル湖	2018/7/15	2018/11/25	5ヶ月12日
TK1804*	オジロワシ	巢内ヒナ	チュクチャギル湖	2018/7/15	2021/5/2**	2年10ヶ月
TK1901*	オジロワシ	成鳥	網走	2020/2/27	追跡中	
182888*	オオワシ	巢内ヒナ	マガダン	2019/8/9	追跡中	
182889*	オオワシ	巢内ヒナ	マガダン	2019/8/9	2020/12/20頃	1年4ヶ月
190533*	オオワシ	巢内ヒナ	マガダン	2019/8/9	2019/12/13	4ヶ月
182887	オオワシ	成鳥	浜頓別	2019/12/16	追跡中	
190534	オオワシ	成鳥	浜頓別	2019/12/19	2020/6/26	6ヶ月
190535*	オオワシ	成鳥	網走	2020/3/10	追跡中	
194267*	オオワシ	成鳥	音威子府	2020/12/27	追跡中	
201526*	オオワシ	成鳥	音威子府	2021/1/7	追跡中	

*本研究（学内プロジェクト）で捕獲、GPS装着調査を実施

**今後、データの再配信があり得る

2) 陸域ベースマップ作成と陸海域における海ワシ類の生息環境特性の解析

(1) 陸域における高精度な広域 GIS ベースマップ作成と潜在生息地の推定

① 高精度ベースマップの作成

図 6-2)-(1)-1 に、2019 年度に作成した土地被覆分類手法のチャート図を示す。この手法からの修正点として、2020 年度は分類項目になかった湿地帯にある植生域を「湿原」とし、湿地帯にある泥地帯については裸地を合わせて「荒地」とした。また、2019 年度は疎林の中に低木林も含めていたが、2020 年度はワシの止まり場や営巣地として利用可能性を持つ「疎林」と、その可能性が低いと考えられる「低木林」を分けた。疎林は衛星画像のピクセル内の 5 割以下が森林である開けた森とし、低木林は ESRI 衛星画像

(<http://www.arcgis.com/home/item.html?id=232727dda91d4978a3b1005bc45f8634>)において目測で樹高が 5m 以下と判断される樹木の優占する森林とした。

※NDVI=N

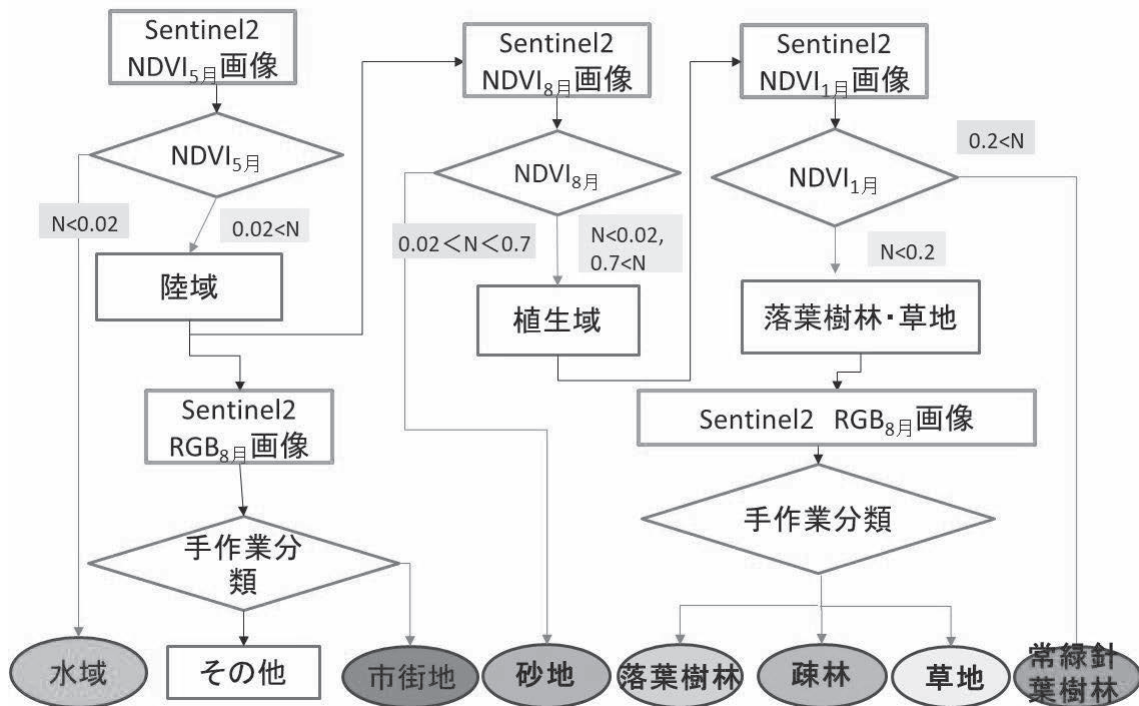


図 6-2)-(1)-1 2019 年度に本プロジェクトで作成した、Sentinel-2 衛星データを用いた土地被覆分類手法チャート

2019 年度と同様に、土地被覆の分類には中程度の解像度(1 ピクセル=20m*20m)で、無償で利用可能な Sentinel-2(<https://sentinel.esa.int/web/sentinel/missions/sentinel-2>)衛星画像を用いた。土地被覆分類図は、ロシアで捕獲して送信機を装着したオジロワシの遠隔追跡調査において利用の確認された範囲を対象とした作成した。

2020 年度の土地被覆分類の手法は、以下の通りである。

まず、「水域」は雪解け時の5・6月に撮影された衛星画像を用い、NDVI(植生指数)を算出してその閾値により分類した。「荒地」は夏(6~9月)に撮影された衛星画像からNDVIを算出し、閾値を設定して分類した。NDVIの閾値は、撮影された衛星画像とESRI衛星画像とを比較し、水域や荒地と重なるよう調整した。

植生のある景観要素については、2019年度の分類手法ではISOクラスタの教師なし分類(Iso Cluster Unsupervised Classification)を利用し、手作業で再分類を行った(図6-2)-(1)-1)。しかし、本来、ISOクラスタ分類は土地被覆の分類では想定しづらい正規分布を仮定したものであることから、2020年度は教師データを用いるSVM法(Support Vector Machine)により分類を行った。SVM法は、必要なサンプル数が少なく正規分布である必要がない、一般的な画像分類手法である(Esri SVMによる分類器定義ファイルの作成 <https://pro.arcgis.com/ja/pro-app/latest/tool-reference/spatial-analyst/train-support-vector-machine-classifier.htm>)。今回はSVM法のうち、RBFカーネル(Radial basis function kernel)を利用した手法により、以下のように解析した。

まず、落葉時期である冬(11~翌年3月)に撮影されたSentinel-2衛星画像を用いてNDVIを算出し、この時期にNDVIが高い地域は常緑針葉樹林もしくは常緑針葉樹の優占する森林であると判断して「常緑針葉樹林」を抽出した。その上でSVMで「森林」に分類された部分を「常緑樹林」で上書きし、上書きされなかった「森林」を落葉樹の優占する森林を含む「落葉樹林」とした。「居住区」はSentinel-2衛星画像、Google earth衛星画像、Esri衛星画像、Yandex衛星画像(<https://yandex.com/maps/213/moscow/?ll=37.588628%2C55.734046&z=10>)を参照し、居住地や街全体の形に沿って作成したポリゴンをラスターに変換して被覆図に取り入れた。「道路・鉄道」については、Open Street Map(以下OSM <http://download.geofabrik.de/russia.html> (ダウンロード:2020年1月13日))をピクセル20*20mのラスターに変換し、被覆図に挿入した。

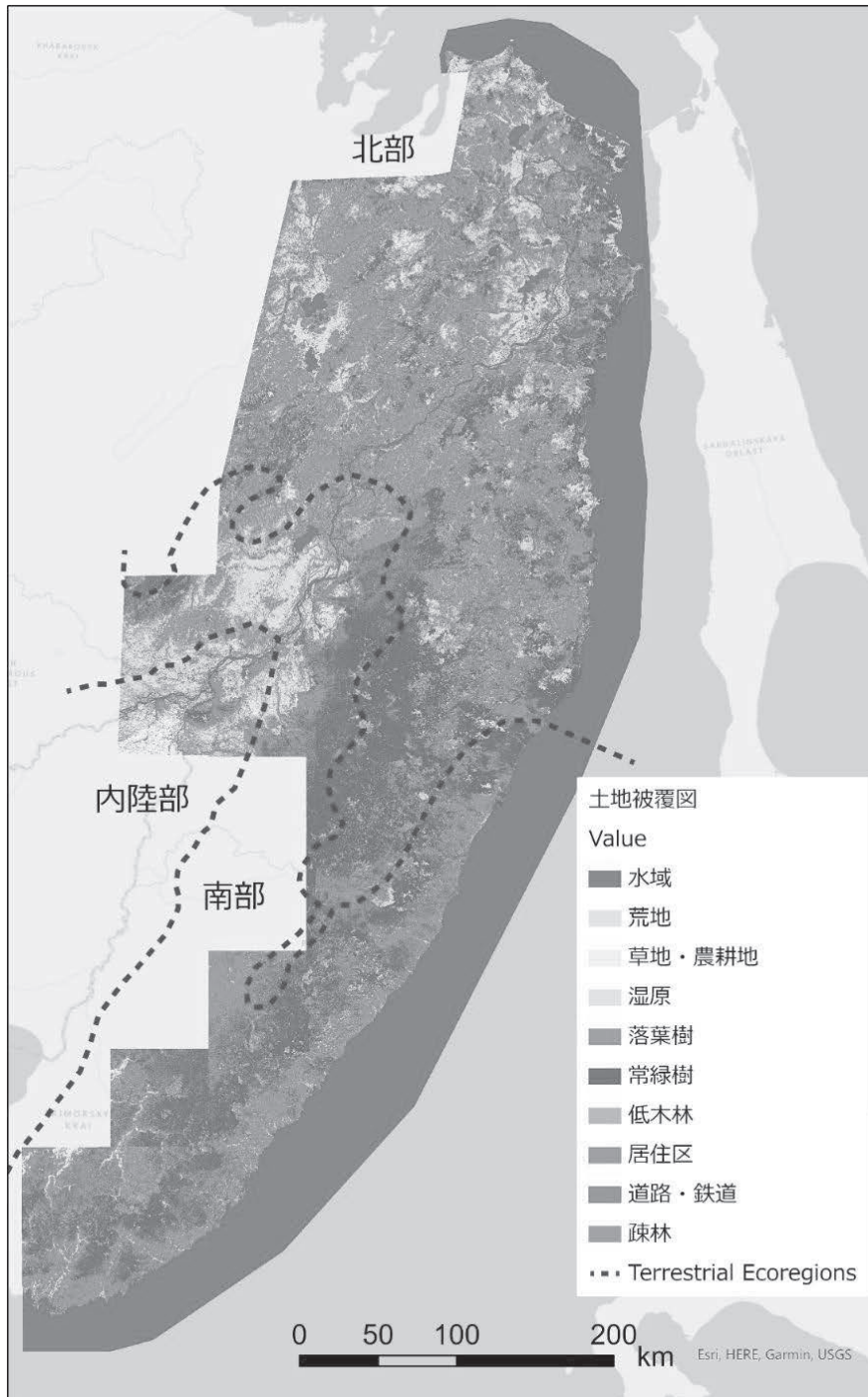
②作成したベースマップの精度検証

精度検証にはQGISのプラグインであるAcATaMa(<https://smbyc.bitbucket.io/qgisplugins/acetama/>)を用いた。土地被覆図の作成範囲が広範囲にわたるため、森林植生などの環境要素は地理的に異なる可能性が考えられた。そこで、Terrestrial Ecoregions(Dinerstein et al. 2017) (RESOLVE : <https://ecoregions.appspot.com/> (ダウンロード:2021年4月8日))による植生帯区分を参考にして被覆図を分割し、精度検証を行った。

土地被覆図の作成範囲には、Terrestrial Ecoregionsで示されている3つの植生環境タイプが含まれており、それぞれの植生を示す範囲区分を「南部(Temperate Broadleaf & Mixed Forests)」、「北部(Boreal Forests/Taiga)」、「内陸部(Flooded Grasslands & Savannas)」として分割した。これらの区分ごとに、ひとつの被覆分類項目につき300点(居住区と道路は面積が極端に小さいため150点)ずつランダムにポイントを発生させ(被覆図全体で8100点)、ESRI衛星画像、Google衛星画像、Yandex衛星画像を用いて目視でサンプル地点の土地被覆分類の正誤確認を行った。Terrestrial

Ecoregions には海域が含まれていないため、Terrestrial Ecoregions で示されている植生タイプ区分の境界線を海域まで延長して、被覆図を分割した(図 6-2)-(1)-2)。

図 6-2)-(1)-2 土地被覆図の作成範囲（被覆の描かれた部分）と精度検証時の地域区分。



Terrestrial Ecoregions (<https://ecoregions.appspot.com/>) による環境区分を重ね合わせて南部、北部、内陸部に区分した。

③行動圏の算出と中継地・越冬地の特定

遠隔追跡調査を行った海ワシ類のうち、ロシアの営巣地で捕獲し、GPS 送信機を装着したオジロワシ巢内ヒナ 5 個体の、2017 年 9 月～2021 年 5 月に得られた位置情報(表 6-2)-(1)-1)をもとに、行動圏の算出および渡り移動の中継地や越冬期の滞留地の特定を行った。

表 6-2)-(1)-1. 追跡個体 ID と GPS データの取得期間

個体番号	データ取得期間
1601	2017年9月～2018年1月
1801	2018年8月～2018年11月
1802	2018年8月～2021年5月
1803	2018年8月～2018年11月
1804	2018年9月～2021年5月

行動圏の算出には、Moent et al. (1996)に基づき、利用可能な精度と考えられる DOP が 6 未満、観測衛星数 4 以上の位置情報を使用した。ただし、罫やとまり場などポイントレベルの情報が重要と考えられる解析では、精度が高いとされる DOP3 未満とした。GPS ロガーの時刻は世界標準時(UTC)で記録されるため、UTC に 10 時間足し、ウラジオストック標準時(VLAT)としてその後の解析を行った。日の出から 1 時間後～日の入り 1 時間前に取得されたデータを「日中」、日の入り 1 時間後～日の出 1 時間前之间に取得されたデータは「罫」とした。罫データのうち、一晚のうち最も DOP が低いデータを、日付が変わる前の日の罫地点とした。ワシの移動に伴う緯度経度の変化によって日の出日の入りの時間も推移するため、使われた地域を 4 地域に分け(A : コムソモリスク・ナ・アムール、B : ムノゴヴェルシンニ、C : ワニノ、D : オリガ)、それぞれの都市の日の出入り時間に合わせて「日中」・「罫」の分類をした。各都市の日の出日の入り時刻は、日本と世界の日の出日の入り時間(<https://www.motohasi.net/SunriseSunset/WorldSun.php>)から取得した。

まず、連続して一定方向に移動した場合を「渡り・移動」とした。Mojica(2006)を参考に、ワシ個体が方向性のある移動をせずにある範囲内で局所的に行動し、それが 7 日間以上続いた場所を「滞在地」とした。局所的な行動範囲は、追跡個体の行動パターンを確認し、ほぼ最大の範囲である半径 60km 以内とした。滞在日数は一晚を 1 日として算出した。滞在地は滞在期間により 2 タイプに分け、7 日以上 20 日以下の場合を「中継地」、21 日以上の場合を越冬地や越夏地となる「滞留地」とした。また、解析では 3~5 月を「春」、6~8 月を「夏」、9~11 月を「秋」、12 月~翌年 2 月を「冬」とした。季節による分類は滞在初日の月を基準とした。なお、上述のように定義した滞在地から一時的に離れる行動が確認されたが、本研究では、出発して 2 週間以内に滞在地に再び戻った場合は滞在期間中の「エクスカージョン」とした。エクスカージョン期間の地点データは、滞在日数と行動圏の算出から除外した。エクスカージョンの前後は同一期間内に利用した滞在地として扱った。

追跡個体の位置データの記録間隔は、原則 2 時間に一回として設定されていたが、バッテリー

残量が多いときは過充電を防ぐためにより短時間の間隔で記録されることや、機材の不具合等により長時間記録されていない場合もあった。個体や日時による位置データの取得間隔の違いによる行動圏推定のバイアスを減らすため、行動圏の推定では、奇数時刻(UTC)の正時に取得された位置データのみをスクリーニングした。中継地と滞留地において、滞在期間中の滞在地点データ(ポイント)から、エクスカージョン中のポイントと、同一期間の滞在地内のすべての最近接ポイントから 10km 以上離れた地点(外れ値)は、行動圏の算出から除いた。行動圏は、R 3.6.2 の adehabitatHR パッケージを用い、最外郭法(Maximum Convex Polygon、MCP)とカーネル法(Kernel Density Estimation、KDE)により算出した。最外郭法では 100%、カーネル法では 95%と 50%の行動圏を算出し、カーネル法 50%行動圏をコアエリアとした(図 6-2)-(1)-3)。それぞれの行動圏はポリゴンとして出力し、面積は ArcGIS Pro2.8 の[ジオメトリ属性の追加]ツールで算出した。

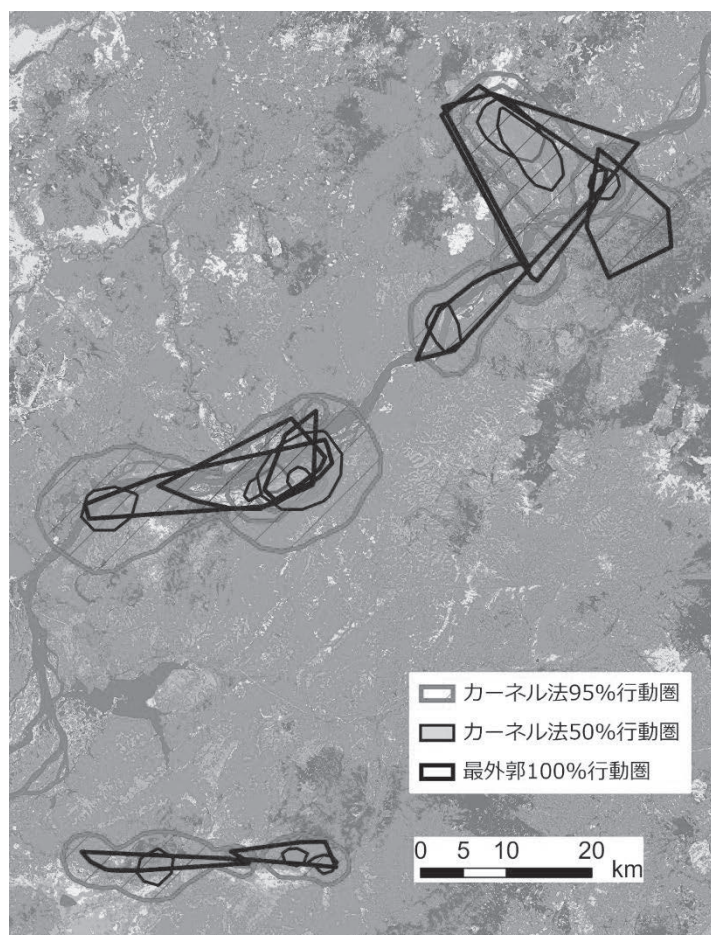


図 6-2)-(1)-3 最外郭法とカーネル法によるオジロワシの行動圏と土地被覆の例(土地被覆図の凡例は図 6-2)-(1)-1 を参照)

④Maxentによる生息環境の解析と潜在的生息地の推定

生息環境の解析にあたり、作成した土地被覆図の範囲を、緯度と主要な餌場と考えられる水域タイプに基づいて北部、南部、内陸部の3地域に分けた。内陸部は春・夏・秋、北部は秋、南部は冬に、それぞれ高頻度で利用されている。3地域それぞれについて、餌場や休息場として利用される日中と、罅と考えられる夜間のそれぞれの利用地点およびそれらの周辺環境について、ワシの利用に関わる要素を抽出し、生息環境モデルを作成するためにMaxent解析を行った。解析は、選択される環境条件が異なる可能性が考えられる日中と夜間に分けて行った。

沿岸部にある北部と南部は、ロシア沿海州の沿岸から100kmを解析範囲とした。海域に関わる変数はASTER Global Water Bodies Database(<https://lpdaac.usgs.gov/products/astwbdbv001/>(2021年8月27日確認))を使用して算出した。北部と南部の境界は、沿海地方とハバロフスク地方の行政区画とした。内陸部は、土地被覆図の作成範囲内において、アムール川付近の湿地帯に点在するワシの行動圏から50kmのバッファを発生させた範囲とした。

作成した土地被覆図から、居住区と道路・鉄道を除くそれぞれの項目について、各利用地点ポイントから半径40・100・200・500・1,000・1,500・2,000・3,000mのスケールでピクセル数を算出し、面積とした。また、居住区、道路・鉄道、海からの距離を算出した。ASTER Global Digital Elevation Model(<https://lpdaac.usgs.gov/products/astgtmv003/>(2021年8月21日確認))の標高データを用い、被覆図と同じスケールで平均標高と斜面方位(8方位と平地の合計9方位)の最頻値を算出した。指定半径内の算出はArcGIS Proの[フォーカル統計]、距離の計算は[ユークリッド距離]を使用した。ピクセルサイズは土地被覆図の解像度である20mに統合した。

以上の利用地点の解析には、DOPが3以下、衛星数4以上で、静止中と考えられる飛行速度0のデータを使用した。ラスターの1ピクセルあたり1点になるように、ポイントデータを振り分けた。また、北部・南部・内陸部それぞれの地域において、日中と罅の利用地点のうち3割をランダム抽出し、検証用のテストデータとして解析からは除した(図6-2)-(1)-4)。

解析には、American Museum of Natural Historyの提供するMaxent software ver.3.4.4(https://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/)を用いた。まず、土地被覆と標高、斜面方位に関わる変数の項目ごとに全スケールの変数を用いた解析を行い、単変数で最も説明力のあるスケールを選択して本解析に使用した。本解析には選択されたスケールの変数と、居住区、道路・鉄道からの距離、沿岸である北部と南部のみに海からの距離を使用した。ジャックナイフ法により変数を選択し、今回は最もAUCが高くなる変数の組み合わせをベストモデルとした。

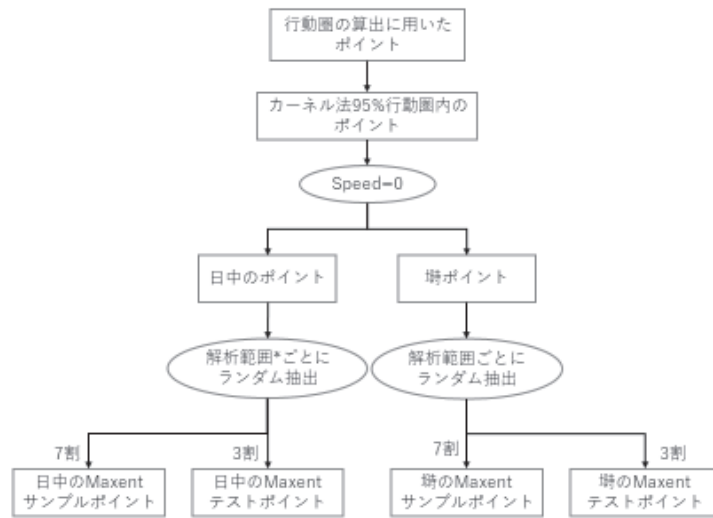


図 6-2)-(1)-4. Maxent 解析に用いた GPS ポイントデータの振り分け方法のフローチャート.
 *解析範囲は、「北部」・「南部」・「内陸部」を指す.

⑤深層学習法による広域土地被覆図の作成

海ワシ類の遠隔追跡調査の結果、ロシアのアムール川流域周辺において、オジロワシの渡り移動時期に高頻度で利用されている場所とその周辺範囲をディープラーニングの学習用データとした(図6-2)-(1)-5)

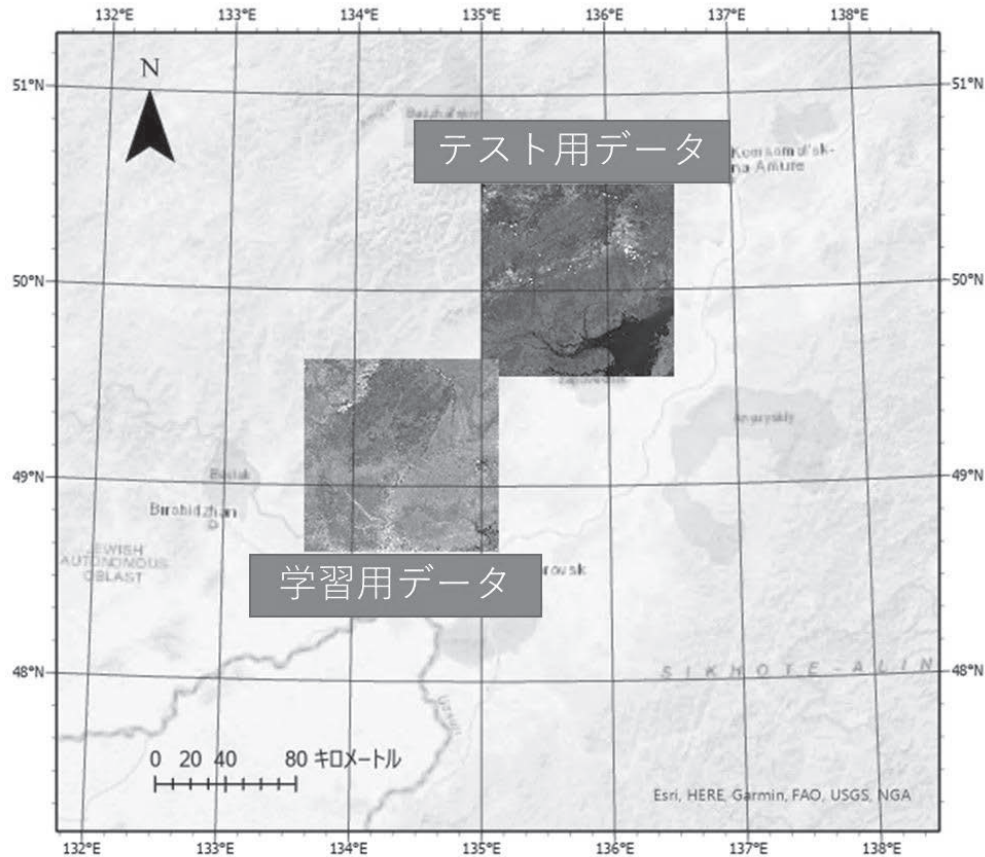


図6-2)-(1)-5 学習用およびテスト用データに使用した範囲

教師データとして、2019年度に本研究で作成された、Sentinel-2 空間分解能 20 mのバンド2からバンド8A、バンド11、バンド12およびOSM (Open Street Map) を用いた土地被覆分類を利用した(図6-2)-(1)-6)。分類項目は、水域、砂地、草・牧草地、湿地、落葉樹林、針葉樹林、疎林、居住区、道路の計9つである。検証にはこの教師データを利用した。なお学習データと同じ座標である。

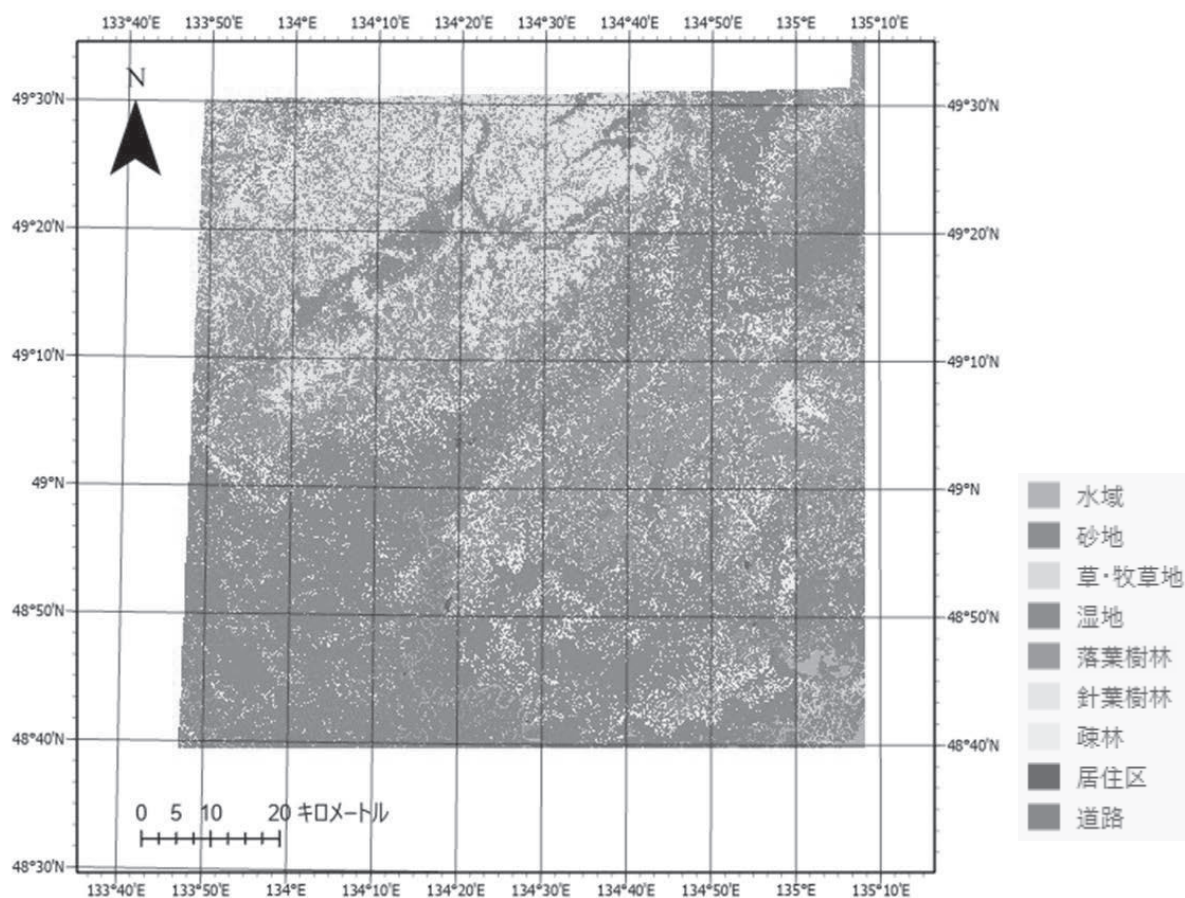


図 6-2)-(1)-6 土地被覆分類図

湿地、疎林・低木林の植生に関わる分類精度の向上を目的とし、多くの研究で多用されている NDVI のほか、植生の評価に有用である正規化緑青差指数 NGBDI (Normalized Green-Blue Difference Index) と、正規化緑赤差指数 NGRDI (Normalized Green-Red Difference Index) を採用した (島田ら、2012)。2019 年 9 月 14 日の Sentinel-2 画像の 4 バンドを使用して、NDVI (図 6-2)-(1)-7A)、NGBDI (図 6-2)-(1)-7B)、NGRDI (図 6-2)-(1)-7C) を作成した。

計算式は次の通りである。

$$NDVI = \frac{\text{Band}8 - \text{Band}4}{\text{Band}8 + \text{Band}4}$$

$$NGBDI = \frac{\text{Band}3 - \text{Band}2}{\text{Band}3 + \text{Band}2}$$

$$NGRDI = \frac{\text{Band}3 - \text{Band}4}{\text{Band}3 + \text{Band}4}$$

NDVI は植生の活性度、NGBDI は緑色および青色波長域の差の指数、NGRDI は緑色および赤色波長域の差の指数を表す。これら 3 つの植生指数画像を重ね合わせたものを学習データとした。

テストデータには、学習用データと同じく Sentinel-2 画像(2019 年 9 月 14 日)のバンド 2、3、4、8 を用い作成した NDVI、NGBDI、NGRDI をコンポジットした (重ね合わせた) ものをテストデータとした。

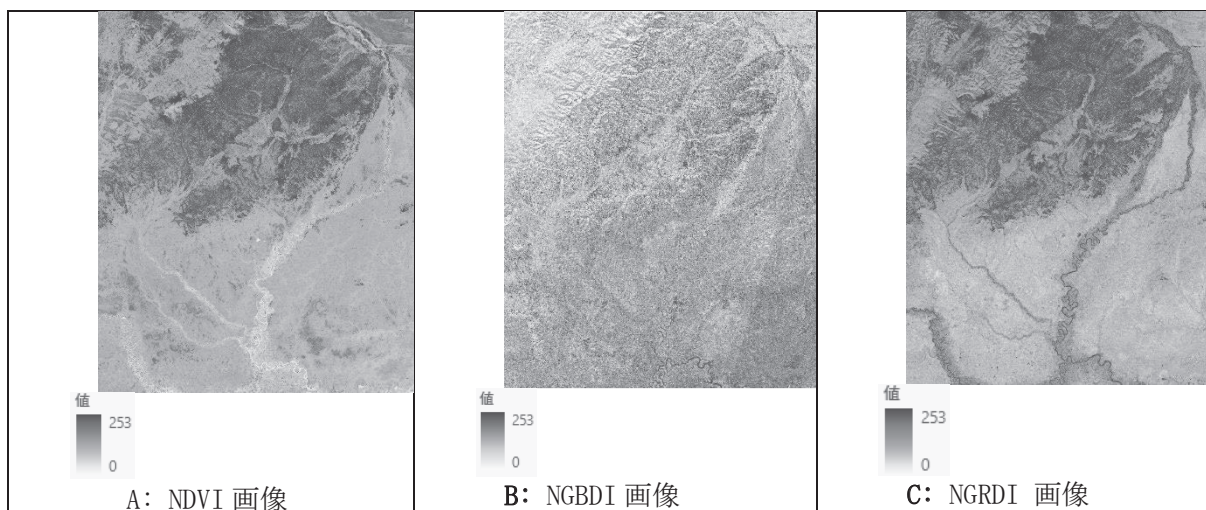


図 6-2)-(1)-7 2019 年 9 月 14 日の Sentinel-2 画像の植生評価指標ごとの表示画像

解析のフローを以下（図 6-2)-(1)-8）に示した。モデルの学習には ArcGIS Pro のディープラーニングモデルのトレーニング(Train Deep Learning Model)ツールを用い、「エポック：20」「モデルタイプ：U-NET」「バッチサイズ：4」「バックボーンモデル：resnet34」として Training Model を作成した。学習環境は次の通りとした。土地被覆分類には ArcGIS Pro のディープラーニングを使用したピクセル分類 (Classify Pixels Using Deep Learning) ツールを用い「Padding：56」「Batch_size：4」「Predict_background：True」「Tile_size：224」として土地被覆分類図を作成した。

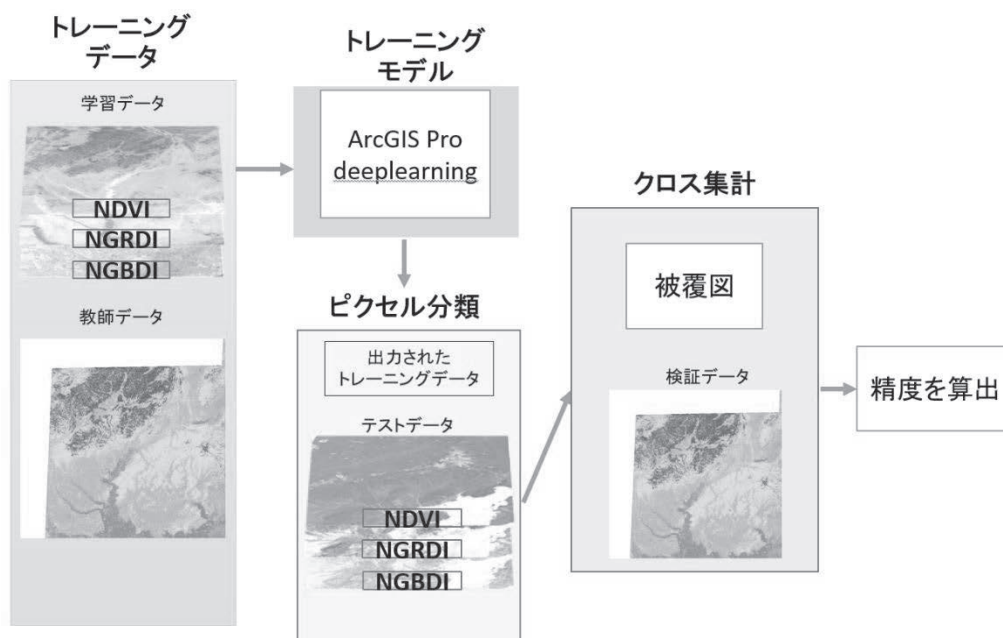


図 6-2)-(1)-8 解析フロー

(2) 海ワシ類の海域滞在地点と気象・海象との関係性の解析

6-1)-(1)で得られたワシ類の位置データと提供された過去の調査データを用い、海ワシ類の海域および陸域の滞在地点と、そのときの海氷と気象状況との関係を明らかにするために、海ワシ個体が移動した経路に沿って気象・海象データの収集を行った。表 6-2)-(2)-1 に、本研究で使用した海ワシの移動データのサンプル数とデータ項目、対応する再解析データの時空間分解能とデータ項目を示した。

表 6-2)-(2)-1 2020 年度に解析した海ワシと再解析データの詳細

期間	海ワシの移動データ		再解析データ	
	サンプル数	データ項目	分解能	データ項目
1995-1998	21	日時, 緯度・経度	水平: 31km 鉛直: 20m 時間: 1 時間	風向・風速・気温・ 積雪密接度・ 海氷密接度
2008	6			
2017-2020	8	日時, 緯度・経度, 高度, 温度		

気象データは、ヨーロッパ中期予報センターECMWF が提供する再解析データ ERA5 を使用した。ERA5 は水平解像度 31km、地表から最高 80km の高さまで 137 層のデータが利用できる。本研究は水平方向の風向・風速、鉛直方向の風速、気温の鉛直データ（地表面から高度約 1,000m まで鉛直分解能は約 20m 間隔）や地表の気温や、積雪データを使用した。海ワシ類の飛行高度の気象状況を把握するため、飛行高度から最も近い 2 高度の鉛直データを重み平均して使用した。飛行経路と気象・海象データの描画は、2 次元描画ソフトウェア GrADS を用いた。

3) 海ワシ類の主要餌種の生息状況の把握・推定

2020年度はコロナ感染拡大の影響により、当初予定よりも縮小して魚類調査を実施した。

(1) 網走周辺水域における採集による魚類調査

海ワシ類の越冬地である網走湾周辺水域に生息する魚類について、捕獲採集による調査ならびに既往調査に関する文献調査を実施した。

① 能取湖・網走湖での小型定置網調査

能取湖ならびに網走湖の湖口において、2020年10月、11月に小型定置網（ふくべ網）による調査を実施した（図6-3-(1)-1）。ふくべ網は湖岸に沿って移動する魚類の習性を利用したもので、湖岸に垂直になるよう網を設置して袋網の中へ誘導して捕獲する。網目合いは約1cmである。ふくべ網を24時間設置後、採集された魚類を東京農大オホーツク臨海研究センターへ持ち帰り、分類同定し、標準体長・体重を測定した。

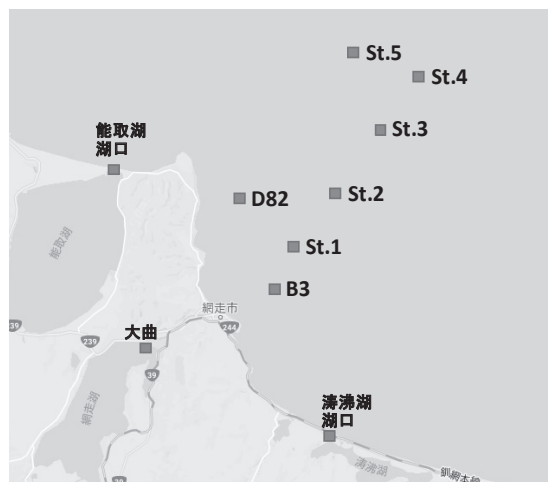


図6-3)-(1)-1 網走周辺の魚類調査地点

② 北海道オホーツク海側主要河川の魚類調査

北海道オホーツク海側の1級河川（渚滑川・湧別川・常呂川・網走川）について、既往調査結果（国土交通省が実施している河川水辺の国勢調査）を整理して魚類の生息状況と河川環境の関係について検討した。また、2級河川である興部川の魚類と河川環境の現地調査を2020年10月、11月に実施した。興部川では上流・中流・下流に代表地点を設定して魚類を採集し、河川環境（水質・底質・周辺環境）を調査した。

(2) これまでの研究結果に基づく海ワシ類の主要餌魚種とその重要な生息域の推定

本分担課題のこれまでのアムール川流域での現地調査および情報収集、網走周辺水域における環境DNA並びに採集調査、そして既往研究に関する文献調査に基づいて、海ワシ類の主要餌魚種を絞り込み、それらの餌魚種の重要な生息場所を明らかにして、海ワシ類にとっての重要な摂餌水域を検討した。

4) 海洋の物理環境に基づくオホーツク海域の一次生産量の推定

(1) 能取湖における一次生産力測定

能取湖はオホーツク海に開口し、潮汐に合わせ、オホーツク沿岸水塊と能取湖湖内水塊が流出入している。これまでの研究結果より、上げ潮時にはオホーツク沿岸水が一気に流入することが明らかとなっている。この結果にもとづき、上げ潮時に湖口で採水し、オホーツク沿岸水の一次生産力の評価を行った（図 6-4)-(1)-1）。

調査は、CTD 観測（水温、塩分、蛍光値）を行ったのち、バンドーン採水器で採水した試水は、透明のポリカーボネートタンク（9 L）に入れ、小型メモリー溶存酸素計（RINKO I, JFE アドバンテック）をタンク内にセットした後、採水水深度に係留した。タンクの上部に小型メモリー光量子計（DEFI2-L, JFE アドバンテック）を設置し、水中の光量の動態を把握した。また現場の光環境を測定するため、小型メモリー光量子計を陸上に設置した。タンクと光量子計は、現場に3日から6日、設置した。

一次生産力の測定調査は、2020年3月18-23日、3月28-4月3日の海氷の影響のある冬季と7月30日から8月2日、8月26-28日の夏季に行った。前者は、寒流の東樺太海流系の水塊が流入する時期であり、後者は宗谷暖流が流入する時期である。調査の実施にあたり、このふたつの海流の影響の把握を考慮し、それぞれの勢力が強い時期を選定した。

一次生産力は、溶存酸素濃度の動態より算出した。すなわち、夜間の動態から呼吸速度を、日中の動態より光合成速度を算出した。なお、酸素による光合成量を炭素量に換算するに際し、光合成商を1と仮定し算出した。

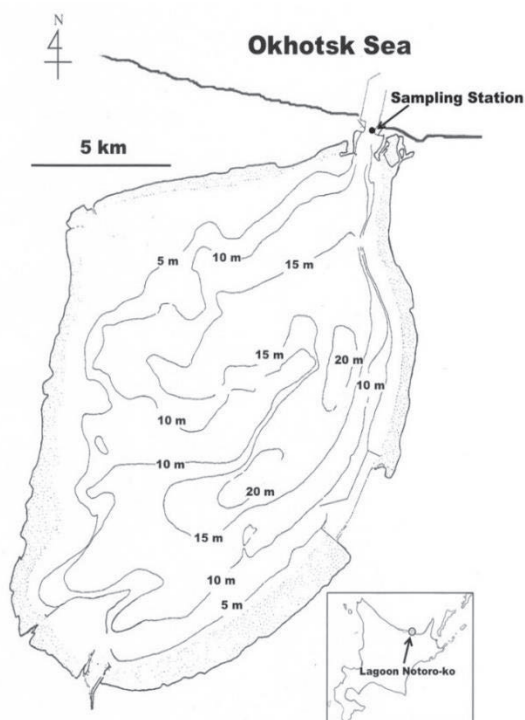


図 6-4)-(1)-1) 能取湖湖口の観測定点

(2) 海域および湖沼のクロロフィル a 濃度の観測

2019 年度に引き続き、衛星観測による能取湖のクロロフィル a 量の観測を行った。昨年度は能取湖で実施した現地観測データの日別値と衛星観測データのクロロフィル a 濃度と比較した結果、両者の関係にばらつきが見られ相関は低かった。この理由は、現地観測が能取湖の湖口で行われており、潮汐の影響で外海の海水を測定することがあるためと考えられた。そのため今年度は、現場観測データは上げ潮時の 2 日から 4 日間の観測データの平均値と衛星データの観測値で比較を行った。

JAXA の衛星データ公開ポータルサイトである JAXA 地球環境モニター「JASMES (JAXA Satellite Monitoring for Environmental Studies)」において、2019 年 10 月からデータの公開が開始された JAXA の GCOM-C 衛星搭載多波長光学放射計 SGLI (Second generation GLocal Imager) を利用して解析を行った。GCOM-C 衛星は北海道エリアを 1 日に 1~2 回の頻度で観測しており、SGLI は可視・近赤外放射計 11 チャンネルと赤外走査放射計 6 チャンネルから構成され、海面温度 (SST)、クロロフィル a 濃度 (CHLA)、光合成有効放射 (PAR)、有色溶存有機物吸光係数 (CDOM)、懸濁物質濃度 (TSM)、結氷状態 (OKID) などの海洋情報を提供している。本研究では現地観測された一次生産量と比較し、SGLI で観測されたクロロフィル a 濃度の妥当性の検証を行い、SGLI データを用いることで現地観測の補完が可能か検討した。提供される SGLI のデータ形式は NetCDF 形式であり、数値解析ソフトウェア MATLAB を用いて現地観測地点のデータを抽出した。

5) 小型船舶を用いたオホーツク海域生態系総合調査

2021 年 3 月 19 日および 3 月 30 日に、網走ネイチャークルーズ船による網走湾から沖合までの海域調査を実施した。30 日は、網走港を起点とする 2 回の航行を実施した。両日の航海軌跡および定点観測地点を図 2-5)-1 に示した。

3 月 19 日は網走沿岸に海氷帯が滞留しており、網走港からおおよそ 10 km 以内を、沿岸から海氷が確認できなかった 30 日は能取湖口から約 30 km の沖合までの範囲をそれぞれ航海し、19 日は 5 定点で、30 日は 7 定点で、それぞれ CTD 観測とネットを用いた動物プランクトン採集を実施した。

また、全航路において、海ワシ類と海鳥類のセンサスを行った。これらのセンサスは、時速 7-10 ノット程度で航行しながら 300m 以内に確認された種と個体数をすべて記録した。ただし、海ワシ類については、視野範囲で視認されたすべての個体の種と個体数を記録した。また、アザラシ類などの海生哺乳類が確認された場合は種と観察地点を記録した。

なお、本調査の実施においては、生物産業学部海洋水産学科 中川至純教授に動物プランクトンの分析や計量・計測を実施していただいた。また、研究代表者の白木の研究室に所属する、生物産業学部北方圏農学科 2 年生の木村智紀が船舶調査に参画し、主に海鳥類のセンサスを担当した。



図 2-5)-1 2020 年度オホーツク海生態系総合調査の航路と定点観測地点.

赤マークと緑マークは観測定点, 数字は定点番号, 赤いラインはセンサスを実施した航路を示す。

6) 極東地域における海ワシ類と陸海域生態系の越境的保全に関するワークショップの開催

COVID-19 感染拡大の影響により、日本鳥学会網走大会ならびに学会期間中に開催予定だった日露国際シンポジウムは中止となり、ワークショップも開催しなかった。

7. 研究成果

1) 遠隔追跡調査による、海ワシ個体の渡り移動経路と包括的生息地の特定

2020年度までに送信機を装着した海ワシ類のうち（表 6-1-1）、ロシアアムール川中下流域の営巣地で送信機を装着し、2020年度まで継続して遠隔追跡を実施できたオジロワシ2個体（TK1802と1804：図 7-1-1-1、2）と、ロシアマガダンで2019年8月に捕獲し2020年度も継続して追跡されたオオワシ2個体（1個体は2020年12月まで）、2020年度の越冬期に網走で捕獲したオジロワシとオオワシの成鳥各1個体について、渡り移動経路の概要を報告する。

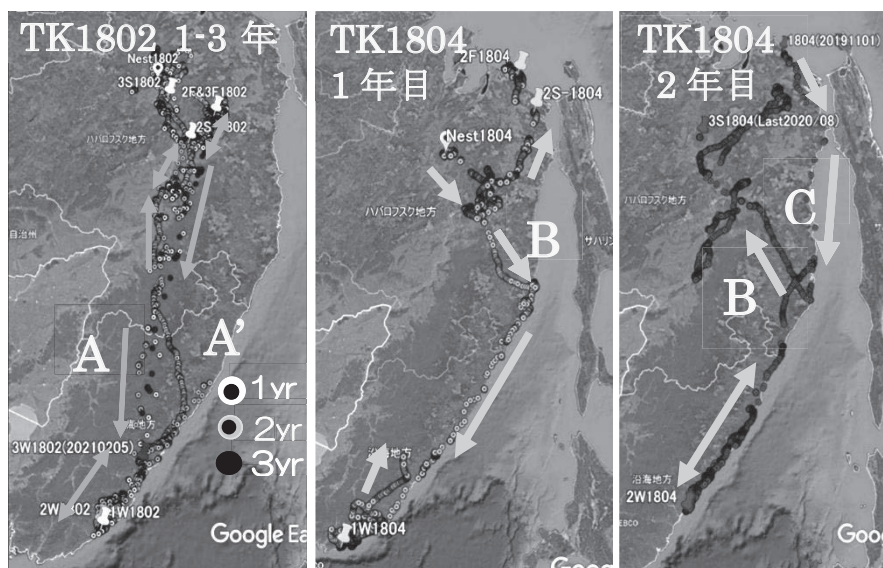


図 7-1)-1-1 アムール川河口西部の内陸にあるチュクチャギル湖の営巣地(Nest)で、2018年7月中旬に捕獲して送信機を装着したオジロワシ巣内ヒナ TK1802 (左) と TK1804 (中・右) の移動軌跡。1年目 (1yr: 2018年7月～2019年10月), 2年目 (2yr: 2019年11月～2020年10月 (TK1804はデータ配信が断絶したため8月まで)), 3年目越冬期 (3yr: 2020年11月～2021年2月5日 (TK1802のみ*)) の滞在地点を示した。Wは冬の、Sは夏の、Fは秋のそれぞれ主な滞在地を、季節の横の数値は出生後の年数をそれぞれ示す。矢印は主な移動方向を、A、A'、B、Cは長距離飛行の確認された渡り移動のフライウェイを表す。

*TK1804は、2020年11月から2021年2月16日まで位置データが記録されなかった。

また、TK1802と1804の2020年度の秋の渡りから春の渡り開始までの移動・滞在状況を図 7-1)-1-2 に示した。

右図 7-1)-1-2 アムール川河口西部の内陸にあるチュクチャギル湖の営巣地で、2018 年 7 月中旬に捕獲して送信機を装着したオジロワシ巢内ヒナ TK1802 と TK1804 の 2020 年度の越冬地と移動軌跡 (図 7-1)-1-1 の続き)。3W は出生して三回目の越冬地を示す。



- TK1802:
20/11/14～21/03/08
- TK1804:
20/02/16～21/03/12

TK1802 及び 1804 の 2 個体と、2017 年度にアムール川中流域で送信機を装着した TK1601 の追跡調査結果から

(2019 年度学内プロジェクト成果報告書参照)、この地域で巣立ったオジロワシでは、少なくとも当歳幼鳥あるいは若鳥は海を越えてサハリンや日本に渡ることはなく、いずれも北海道と同程度の緯度にある沿海地方の沿岸で越冬することがわかった。また、TK1802 と 1804 は、2021 年 3 月までの 3 回の越冬期に、ほぼ同様なエリアに滞在しており(図 7-1)-1-1、2)、少なくとも亜成鳥までは継続して同じ地域を越冬のために利用することが示された。ただし、追跡個体数が多いとはいえないため、これらが一般的な行動パターンといえるのか、また、成鳥になり繁殖テリトリーを所有した個体の移動経路や越冬地については明らかではないことから、さらに調査を行う必要がある。

TK1802 は、出生年翌年の 2019 年の夏(2S)は出生地からやや南東部に滞在していたが、2020 年の夏(3S)は出生地であるチュクチャギル湖周辺に滞在した(図 7-1)-1-1 左図)。TK 1804 も沿海地方の南部沿岸で越冬したが、1802 と異なり、最初の春の渡りでは出生地であるチュクチャギル湖を超えて北上し、夏と秋は北部オホーツク海付近に滞在した(図 7-1)-1-1 左図の 2S と 2F1804)。しかし出生後 3 回目の夏(3S)は 1802 と同様に、出生地であるチュクチャギル湖付近に滞在した(図 7-1)-1-1 右図)。

オジロワシでは、巣立った後も出生地の比較的近くに留まる、または移動しても戻る傾向があることが各地で報告されているが、この調査でも夏には出生地付近に戻る傾向が示された。とくに 3 年目の夏には、同じ地域の別の巣で生まれた 2 個体が営巣地付近に戻って滞在していることから、出生後 3 年目辺りから、出世地周辺で営巣可能な場所を探索している可能性も考えられる。

今回の追跡調査から、内陸の生息地から越冬地となる沿岸部に至る秋の移動経路として、3ヶ所のフライウェイ(渡りなど長距離飛行する経路)が確認された。ひとつは TK 1802 の利用した、ハバロフスクからややアムール川下流方向に南下した地点から沿岸部を目指す経路 A およびその逆の経路 A' で、2017 年度に出生して追跡調査した TK1601 も A を利用した(2019 年度報告書参照)。もうひとつは、さらにアムール川下流部(北部)に位置するアムルスク北部から南東方向に沿岸を結ぶ経路で、TK1804 が 1 回目の秋と翌春の渡り移動時期に利用したルート B である。後述する 2019 年度にマガダンで出生したオオワシ幼鳥 889 もルート B とほぼ同様な経路 D で沿岸部に達している(図 7-1)-2)。A、B、D はすべて山岳地を超える経路であることから、上昇気流が生じやすいことや追い風であるなどの気象条件や地形条件により、省エネルギー飛行

に適したフライウェイである可能性が考えられる。

一方、出生して2年目の2019年の夏から秋にかけて、アムール川河口北部のオホーツク海沿岸に滞在したTK1804は、1年目に利用したアムール川沿いを南下する秋の渡り経路Bではなく、オホーツク海沿岸からそのまま間宮海峡沿岸を南下する経路Cを利用した。渡り移動経路は個体ごとに固定されたものではないことが示されたほか、このような経路の変化が餌資源の分布や気象条件、個体の学習や経験などに関連するのかを明らかにすることは、保全すべき海ワシ類の潜在的な渡り移動経路の検討においても重要である。

次に、2019年8月にマガダンで捕獲したオオワシの巣内ヒナ3個体のうち、長期にわたるデータが取得できた2個体(888と889)の滞在地点や渡り移動経路を、図7-1)-2に示した。

両個体は、出生地のマガダンを出発した1年目の秋は、ともにオホーツク海沿岸を西に向かったが、その後、異なる渡り経路をとった。

個体888はシャンタル諸島経由でサハリン西北端付近に渡り、サハリンを南下して宗谷岬よりやや東南部から北海道に渡来した(図7-1)-2左図)。そして北海道北部のサケ科魚類の遡上している河川に滞留後、12月に北海道東部の阿寒、釧路地方に移動して越冬した(図7-1)-2左図、1W、2W)。2020年3月下旬に北上を開始し、宗谷岬からサハリンに渡り、サハリン北部に達した2020年5月以降GPSデータの配信が途絶えたが、再び配信が復活し、サハリン北端部で超夏したことが確認された(図7-1)-2左図2S)。その後9月下旬に間宮海峡を渡って大陸側に移動したが、出生地のマガダン付近には戻らず、図7-1)-2の左図に示した2F-888付近で一時的に滞在した後、再びサハリンに渡り、秋にはそのまま南下して北海道に渡来した。2021年2月まで、昨年度の越冬地とほぼ同じ場所に滞在した(図7-1)-2左図2W)。一方、個体889は、2019年度の秋季はハバロフスク地方で生まれたオジロワシと同様にアムール川流域を南下し、アムルスク周辺から山岳地を超えて(経路D)沿海地方沿岸部に移動して越冬した(図7-1)-2右図)。また、この個体は、春の渡り移動では越冬地から沿岸部を北上してアムール川河口周辺に達した後、シャンタル諸島周辺に6月まで滞留し、その後、マガダンの出生地付近の河川で超夏した(図7-1)-2右図2S)。10月にはサハリン最北端西側に渡り、南下して宗谷岬から北海道に到着した。このように、1年目と2年目でまったく異なる渡り経路を利用し、異なる越冬地をめざす個体のいることが明らかになった。

2020年12月にサハリンから北海道に渡来した889は、同年12月下旬まで北海道北部のJR宗谷本線付近での滞在が確認されていたが、長期間にGPSの位置が動かないことから雪解けが始まった2021年4月に現地を探索したところ、付近の線路脇で同個体の発信機とこの個体と思われるオオワシ若鳥の羽や羽毛が大量に確認された。近年、列車轢死するエゾシカ死体を線路周辺で食している際に列車に衝突する海ワシ類の事故が多数、報告されているおり、889も線路周辺での行動が確認されていたことから、列車事故に遭った可能性が高い。近年増加している北海道内における風力発電用風車への衝突死等との累積的な影響は、海ワシ類の個体群に対して深刻な影響をもたらすことが懸念され、事故防止対策が急務である。

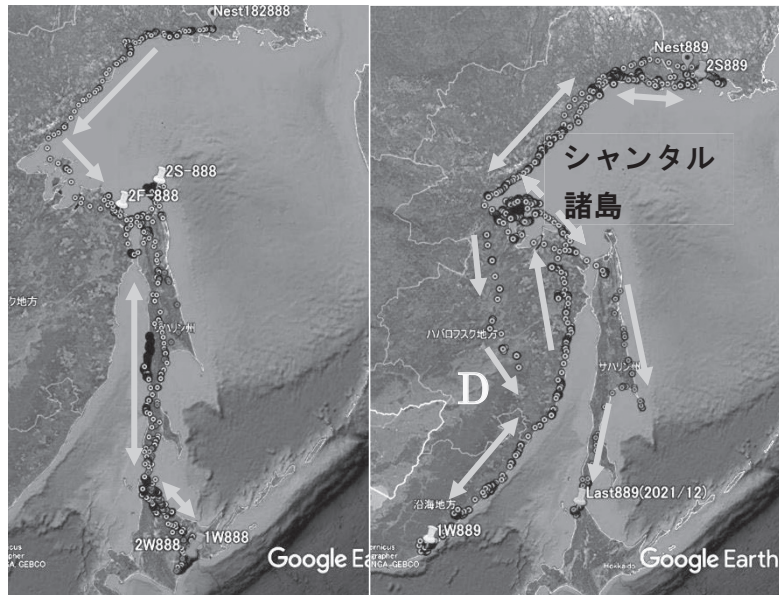


図 7-1)-2 2019 年 8 月にロシアマガダン国立保護区内の営巣地(Nest)で捕獲したオオワシ巣内雛 2 個体 (888(左)および 889(右)) の移動経路と主な滞在地。1 年目 (2019 年 8 月～2020 年 10 月) と 2 年目 (2020 年 11 月～2021 年 2 月) の滞在地点を色別(888 : 濃いピンク 1 年目, 薄いピンク 2 年目, 889 : 薄い橙 1 年目, 濃い橙 2 年目)に示した。W は冬の, S は夏の, F は秋のそれぞれ主な滞在地。季節の横の数値は出生後の年数。矢印は主な移動方向を, 右図の D は長距離飛行した渡りのフライウェイを表す。

次に、本プロジェクトで開発したネットランチャーを用いた罠を用い、越冬期に網走市にある網走湖畔で捕獲し、送信機を装着したオジロワシとオオワシの成鳥各 1 個体の追跡状況について述べる (図 7-1)-3)。

2020 年 3 月初めに網走湖で捕獲して放鳥したオオワシ成鳥 190535 は、すぐにサハリンに向かい、北部オホーツク海沿岸で越夏した (図 7-1)-3 左図 Su535)。夏の間の行動圏が局所的だったことから、ここで繁殖していたと考えられる。同様に、2020 年 2 月末に網走湖で捕獲して放鳥したオジロワシ成鳥個体 1901 は、送信機装着して放鳥後、数日でサハリンに渡り、南部の西部沿岸で越夏した (図 7-1)-3 右図 Su1901)。ただし、この個体は繁殖期もかなり広範囲を移動していたことから、繁殖しなかった、あるいは途中失敗した可能性が考えられた。

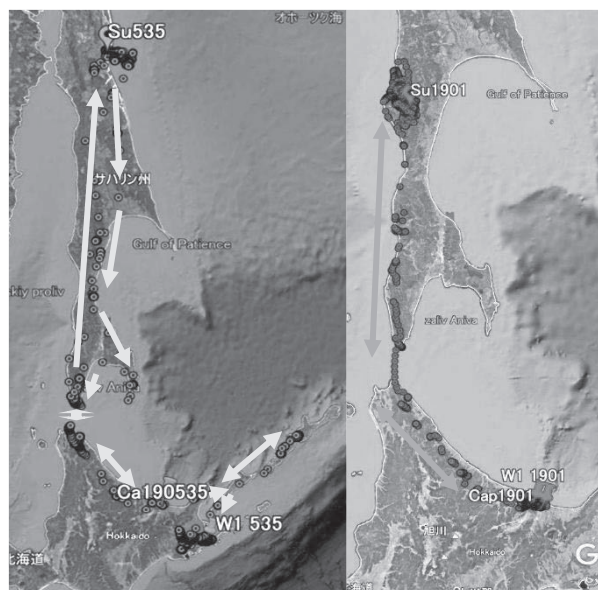


図 7-1)-3 2020 年の越冬期後期に、北海道網走市網走湖岸で捕獲したオオワシ成鳥(左)とオジロワシ成鳥(右)の渡り移動経路，繁殖地と考えられる夏の滞在地 (Su) および 2021 年 2 月までの越冬地 (W1) .Ca は捕獲地(網走)を示す。矢印は移動方向を示す。

190535 は 2020 年の秋に再び北海道に渡来し、オホーツク海沿岸を南下して知床半島から 11 月 17 日に択捉島に渡り、おそらくはサケの遡上している河川の周辺に約 2 週間滞在した後、国後島には滞在せずに根釧地域の内陸部に移動した(図 7-1)-3 左図)。ここでも主に河川沿いに生息していたことから、川に遡上しているサケ、もしくはエゾシカの死体を餌としていたと考えられる。その後、2021 年 1 月中旬から 2 月 5 日まで氷下待網漁が行われている風連湖周辺に滞在しており、漁業から投棄される雑魚類を餌にしていたと考えられる。

オジロワシ 1901 も 2020 年の秋に再び北海道に渡来し、2021 年 2 月には捕獲した網走湖に隣接した能取湖や佐呂間湖周辺に滞在した(図 7-1)-3 右図)。以上のことから、海ワシ類のうち少なくとも成鳥は、過去の経験に基づいてほぼ同じ経路で、同じ越冬地周辺に継続的に渡来する可能性が高いことが考えられる。

2) 陸域ベースマップ作成と陸海域における海ワシ類の生息環境特性の解析

(1) 陸域における高精度な広域 GIS ベースマップ作成と潜在生息地の推定

① 高精度ベースマップの作成

方法で述べた手法に従い、2020 年度に作成した土地被覆分類手法を改善したチャートを図 7-2)-

(1)-1 に示す。

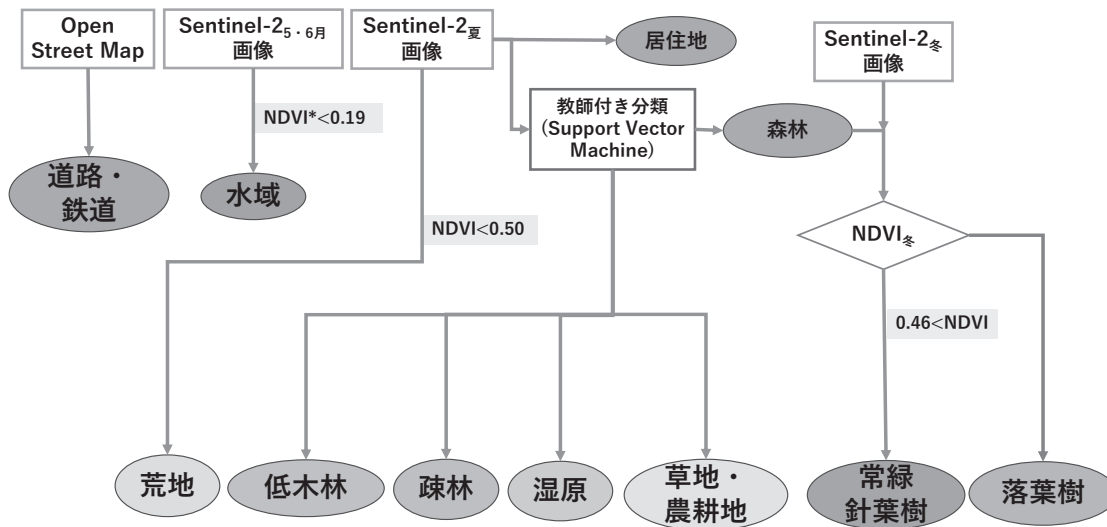


図 7-2)-(1)-1 Sentinel-2 衛星データを用いた改善された土地被覆分類手法. この手法に基づいて作成した土地被覆図全体を, 図 7-2)-(1)-2 に示した。

② 精度検証

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

精度の評価には Producer accuracy(PA)、User accuracy(UA)、Overall accuracy(OA)を用いた。PA は分類図の項目ごとにおいてどれほど精度が高いかを示している。UA は衛星画像から見て、本来の土地被覆と作成した分類図がどれほど合っているかを示している。OA は全ポイント数の内、正しい分類下のポイント数の割合であり、土地被覆の作成範囲全体における総合精度を示している。

OA は南部で 79%、北部 77.6%、内陸部 78.1%であり、3つの環境に大きな差はなかった。水域の UA・PA は3地域で 90%~99.3%と高い精度を示した。荒地は内陸部の UA が 60.0%と3地域で最も低かった。また、内陸部の草地・牧草地の PA が 63.1%となっており、詳細な衛星画像から見た場合には草地・農耕地と判断できるが、被覆図において荒地に分類されている(110/453 点)。この地域は草地・農耕地の面積割合が他の地域より多く、休耕や収穫後、または洪水により地面がむき出しになっている畑が荒地として分類されている箇所があった(図 7-2)-(1)-3)。内陸部は一部地域がアムール川の氾濫原となり、沿岸地域と比較して農耕地であっても裸地として分類される面積が大きくなった可能性がある。湿原は北部の UA(65.7%)と内陸部の PA(57.4%)が低かった。北部は湿原に分類された中に低木林(34/300 点)、疎林(36/300 点)が含まれていた。落葉樹の UA は南部 90.1%、北部 88.0%、内陸部 88.0%と高い精度であったのに対し、PA は南部 59.4%、北部 62.4%、内陸部 75.6%と低くなっている。これは、他の分類項目で落葉樹に誤分類されていた部分が多かったことを示している。南部と北部は、低木林と疎林が落葉樹に分類されているポイントが多かった。2019 年度までの土地被覆図においても低木林と疎林は分けることが難しく、精度は Thomlinson ら(1999)が提唱する、実用可能な精度基準である個々の分類精度 70%に届いていなか

った。

作成した分類図の中に、他の分類が1〜数ピクセル孤立して発生しており、この現象は一般的にゴマ塩状効果と呼ばれている。ゴマ塩効果は分類精度の低下につながる(大西・前崎 2014)。ロシア沿海地方は森林火災が度々発生する地域であり(Conard et al. 2002)、森林伐採もあり得ることから、衛星の撮影年度によって森林の状況は異なる可能性がある。このことにより、数年内の環境を反映している Sentinel-2 衛星画像では伐採地や山火事跡の草地や疎林になっていても、Google Earth や ESRI 衛星画像では森林として分類され得ることが、精度の低下につながっている可能性がある。

ゴマ塩効果を除去するため、数ピクセル内における分類の最頻値をそのピクセルの分類とする方法を試みた。ArcGIS Pro のフォーカル統計を用いて、5*5 ピクセルの最頻値を計算した。最頻値が複数項目あった場合は分類項目が定まらないため、オリジナルの被覆図のままとした(全体データの1.3%)。精度検証のランダムポイント数を約4000個とし、再び精度検証を行った(表7-2)-(1)-2)。その結果、3地域全てにおいて精度が低かった低木林と疎林の精度改善がみられた。修正前の分類図で精度が高かった落葉樹林や常緑針葉樹林は大きな変化は見られなかった。

今回の土地被覆図作成方法ではこれ以上の精度の向上は困難であると考えられたことから、作成した被覆図のゴマ塩効果を取り除いた修正版を海ワシ類の生息環境解析に供することとした。さらなる精度向上には、アムール川の氾濫時期など季節による地表面の変化を考慮し、異なる時期や年度に撮影された複数の衛星画像を用いて土地被覆を確認することや、林冠の高さや樹冠率が判別可能な手法を導入することなどで改善される可能性がある。

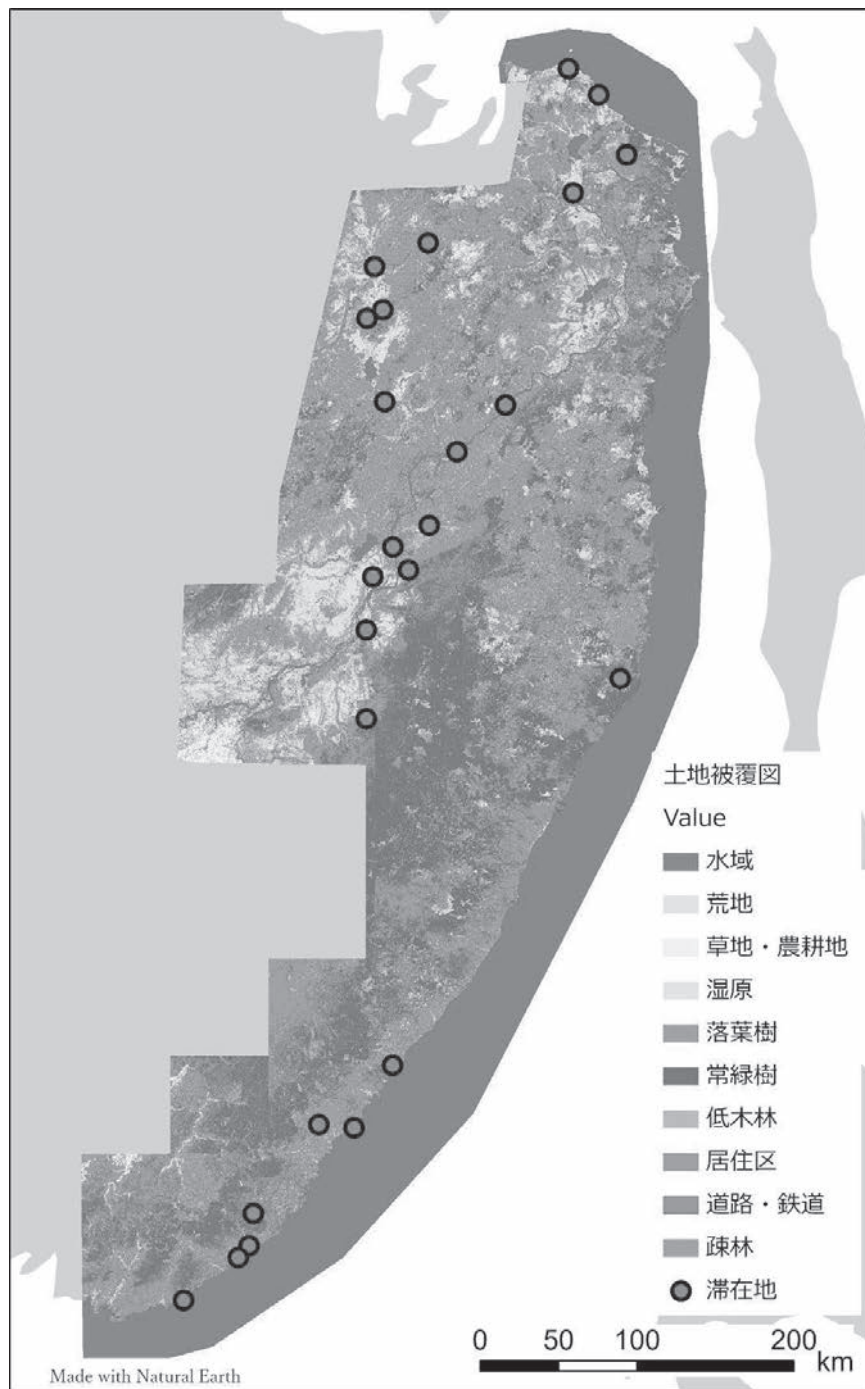


図 7-2)-(1)-2 作成した被覆図とオジロワシの滞在地

表 7-2)-(1)-1 土地被覆分類の精度検証の結果

被覆分類	Classified values											Total	User accuracy(%)	Total class area (km ²)	Area proportion(%)
	水域	荒地	草地・農耕地	湿原	落葉樹	常緑樹	低木林	居住区	道路・鉄道	疎林					
水域	298	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	300	99.3	46745.8	17.201
荒地	1	246	18	4	6	6	8	0	0	0	11	300	82.0	5552.5	2.043
草地・農耕地	0	0	232	2	25	1	14	0	0	0	26	300	77.3	10210.3	3.757
湿原	0	0	4	268	2	2	5	0	0	0	19	300	89.3	19198.3	7.064
落葉樹	0	0	0	1	272	18	2	0	0	0	7	300	90.7	79953.0	29.420
常緑樹	0	0	0	0	15	284	1	0	0	0	0	300	94.7	45867.0	16.878
低木林	0	1	11	37	83	41	77	0	0	0	50	300	25.7	22317.0	8.212
居住区	0	0	0	0	3	0	0	147	0	0	0	150	98.0	1131.4	0.416
道路・鉄道	1	0	0	0	1	0	0	0	147	1	1	150	98.0	830.4	0.306
疎林	0	0	6	44	51	15	20	0	0	0	164	300	54.7	39955.2	14.702
total	300	247	271	357	458	367	127	147	147	147	279	2700		271761.0	
Producer accuracy(%)	99.3	99.6	85.6	75.1	59.4	77.4	60.6	100.0	100.0	100.0	58.8				
Overall accuracy(%)	79.1														

被覆分類	Classified values											Total	User accuracy(%)	Total class area (km ²)	Area proportion(%)
	水域	荒地	草地・農耕地	湿原	落葉樹	常緑樹	低木林	居住区	道路・鉄道	疎林					
水域	298	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	300	99.3	44081.3	18.4
荒地	4	227	17	0	10	7	13	0	0	0	22	300	75.7	4633.1	1.9
草地・農耕地	0	3	208	6	15	2	34	0	0	0	32	300	69.3	5032.9	2.1
湿原	0	2	13	197	8	16	28	0	0	0	36	300	65.7	11940.9	5.0
落葉樹	0	0	1	1	264	18	11	0	0	0	5	300	88.0	75563.7	31.5
常緑樹	0	0	0	1	9	286	4	0	0	0	0	300	95.3	45128.6	18.8
低木林	0	0	10	12	76	28	114	0	0	0	60	300	38.0	19554.2	8.2
居住区	0	0	0	0	1	0	0	147	0	0	2	150	98.0	295.3	0.1
道路・鉄道	1	0	0	0	0	0	0	0	149	0	0	150	99.3	487.4	0.2
疎林	0	0	9	13	40	12	22	0	0	0	204	300	68.0	33124.7	13.8
total	303	233	258	231	423	369	226	147	149	149	361	2700		239842.1	
Producer accuracy(%)	98.3	97.4	80.6	85.3	62.4	77.5	50.4	100.0	100.0	100.0	56.5				
Overall accuracy(%)	77.6														

表 7-2)-(1)-1 修正後の土地被覆分類の精度検証の結果 (つづき)

Thematic raster classes	Classified values													
	水域	荒地	草地・農耕地	湿原	落葉樹	常緑樹	低木林	居住区	道路・鉄道	疎林	Total	User accuracy(%)	Total class area (km ²)	Area proportion(%)
水域	270	7	6	12	0	0	1	0	0	4	300	90.0	1332.3	8.3
荒地	0	180	110	2	0	0	2	0	0	6	300	60.0	459.7	2.9
草地・農耕地	2	1	286	3	0	0	3	0	0	5	300	95.3	2588.7	16.2
湿原	0	0	13	259	5	0	6	1	0	16	300	86.3	3628.7	22.7
落葉樹	0	0	10	8	264	5	3	0	0	10	300	88.0	2194.7	13.8
常緑樹	0	0	1	3	41	255	0	0	0	0	300	85.0	369.2	2.3
低木林	0	0	7	67	27	1	151	2	0	45	300	50.3	1381.4	8.7
居住区	0	0	1	0	0	0	0	149	0	0	150	99.3	418.1	2.6
道路・鉄道	2	1	0	0	0	0	0	0	147	0	150	98.0	171.5	1.1
疎林	0	1	19	97	12	3	21	0	0	147	300	49.0	3415.3	21.4
total	274	190	453	451	349	264	187	152	147	233	2700		15959.5	
Producer accuracy(%)	98.5	94.7	63.1	57.4	75.6	96.6	80.7	98.0	100.0	63.1				
Overall accuracy(%)	78.1													

表 7-2)-(1)-2 修正後の土地被覆分類の精度検証の結果

Thematic raster classes	Classified values													
	水域	荒地	草地・農耕地	湿原	落葉樹	常緑樹	低木林	居住区	道路・鉄道	疎林	Total	User accuracy(%)	Total class area (km ²)	Area proportion(%)
水域	366	0	0	0	0	0	0	0	0	0	366	100.0	61200.8	31.7
荒地	0	98	5	5	1	3	2	0	0	3	117	83.8	1522.6	0.8
草地・農耕地	0	0	115	2	9	0	6	0	0	7	139	82.7	2716.6	1.4
湿原	0	0	2	195	2	0	1	0	0	12	212	92.0	8630.6	4.5
落葉樹	1	1	0	1	376	28	5	0	0	4	416	90.4	56451.0	29.3
常緑樹	0	0	0	0	25	319	0	0	0	0	344	92.7	42352.4	22.0
低木林	0	0	9	23	47	16	48	0	0	28	171	28.1	6023.2	3.1
居住区	0	0	0	0	0	0	0	42	0	0	42	100.0	631.8	0.3
道路・鉄道	0	0	0	0	0	0	0	0	56	0	56	100.0	143.9	0.1
疎林	0	0	2	32	21	4	18	0	0	106	183	57.9	13172.9	6.8
total	367	99	133	258	481	370	80	42	56	160	2046		192845.8	
Producer accuracy(%)	99.7	99.0	86.5	75.6	78.2	86.2	60.0	100.0	100.0	66.3				
Overall accuracy(%)	84.1													

表 7-2)-(1)-2 修正後の土地被覆分類の精度検証の結果 (つづき)

北部																
Classified values																
被覆分類	水域	荒地	草地	農耕地	農耕地	湿地	常緑樹	常緑樹	低木林	居住区	道路・鉄道	疎林	Total	User accuracy (%)	Total class area (km ²)	Area proportion (%)
水域	268	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	271	98.9	43701.5	18.2
荒地	1	93	6	1	8	4	4	5	0	0	0	6	124	75.0	4606.2	1.9
草地・農耕地	0	0	93	1	1	2	5	5	0	0	0	15	117	79.5	4174.1	1.7
湿地	0	0	5	126	4	3	8	8	0	0	0	16	162	77.8	11324.5	4.7
落葉樹	1	0	3	2	306	26	8	8	0	0	0	10	356	86.0	80837.0	33.7
常緑樹	0	0	0	10	337	1	0	0	0	0	0	3	351	96.0	46787.5	19.5
低木林	0	3	4	8	21	10	72	0	0	0	0	32	150	48.0	15355.1	6.4
居住区	0	0	0	0	0	0	0	0	55	0	0	0	55	100.0	312.1	0.1
道路・鉄道	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	51	0	51	100.0	190.6	0.1
疎林	0	1	9	13	30	3	28	0	0	0	0	154	238	64.7	32265.1	13.5
total	270	97	120	154	380	385	127	55	55	100.0	100.0	236	1875		239553.7	
Producer accuracy (%)	99.3	95.9	77.5	81.8	80.5	87.5	56.7	100.0	100.0	100.0	100.0	65.3				
Overall accuracy (%)	82.9															
内陸部																
Classified values																
被覆分類	水域	荒地	草地	農耕地	農耕地	湿地	常緑樹	常緑樹	低木林	居住区	道路・鉄道	疎林	Total	User accuracy (%)	Total class area (km ²)	Area proportion (%)
水域	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	100.0	1384.5	8.7
荒地	0	7	5	0	0	0	0	1	0	0	0	1	14	50.0	462.4	2.9
草地・農耕地	0	0	21	0	0	0	0	0	0	0	0	1	22	95.5	2713.1	17.0
湿地	0	0	0	29	0	0	1	0	0	0	0	1	31	93.5	3708.3	23.3
落葉樹	0	0	2	0	16	0	1	0	0	0	0	0	19	84.2	2269.6	14.2
常緑樹	0	0	0	0	1	11	0	0	0	0	0	0	12	91.7	313.8	2.0
低木林	0	0	1	2	0	0	0	5	0	0	0	2	10	50.0	1135.2	7.1
居住区	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10	100.0	440.5	2.8
道路・鉄道	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	7	0	8	87.5	79.0	0.5
疎林	0	0	2	3	1	0	0	1	0	0	0	16	23	69.6	3422.7	21.5
total	18	7	32	34	18	11	9	10	10	100.0	100.0	76.2	167		15929.2	
Producer accuracy (%)	100.0	100.0	65.6	85.3	88.9	100.0	55.6	100.0	100.0	100.0	100.0	76.2				
Overall accuracy (%)	83.8															

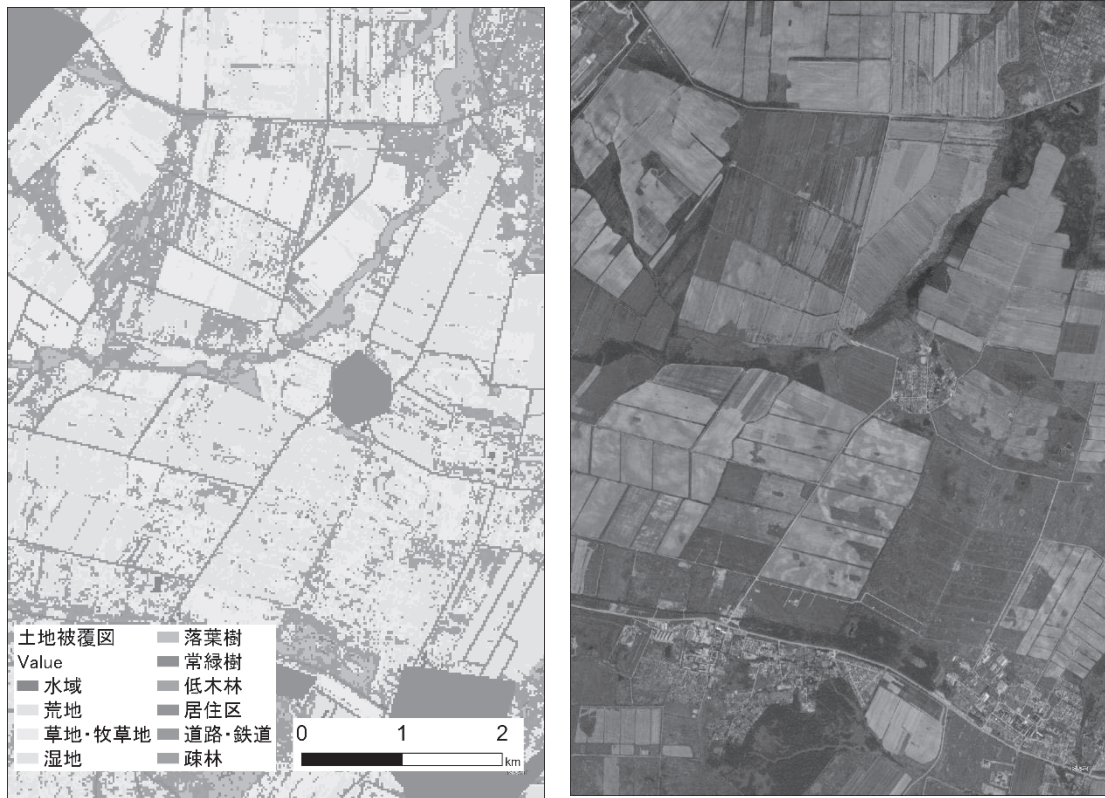


図 7-2)-(1)-3 土地被覆図の作成範囲の内、湿原の畑が荒地に分類されている例。右が ESRI の衛星画像、左は作成した土地被覆図であり、表示範囲は同じである。

③ 行動圏の算出と中継地・越冬地の特定

項目1)の遠隔追跡における、2017年9月～2021年5月に得られたデータから、43カ所の滞在地を特定した(図7-2)-(1)-3)。滞在地のうち、春10、夏4、秋16、冬13カ所であった(表7-2)-(1)-3)。また、これらの滞在地に関する概要を表7-2)-(1)-4に整理した。

行動圏の面積は、最外郭法で最小0.74km²、最大581.39km²、平均147.11km²であった(表7-2)-(1)-4)。コアエリアは湖や河川・海域などの水域を含む場合がほとんどであるが、目立った水域が確認できない内陸の山地となっている場合(1802_3、1802_11)や、ゴミ捨て場を含む場合(1601_4、1804_4)が確認された。アムール川本流周辺の滞在地は、本流より支流や周辺の水たまりをコアエリアとしていた(9カ所/14カ所中)。本流より細くて水量の少ない支流や水たまりの方が、餌を入手しやすい可能性が考えられる。

表7-2)-(1)-3. 季節ごとの中継地・滞留地数

	中継地	滞留地	合計
春	8	2	10
夏	2	2	4
秋	8	8	16
冬	3	10	13
			43

表 7-2)-(1)-4. 追跡したオジロワシ各個体の行動圏の期間と滞在季節、滞在タイプ(中継地・滞留地)、エクスカージョンの有無、最外郭法とカーネル法で算出した面積 *時間基準都市 : A : コムソモリスク・ナ・アムーレ, B : ムノゴヴェルシンニ, C : ワニノ, D : オリガ

滞在開始	出発	日数	季節	滞在地 タイプ	エクスカ ージョン	最外郭法行動圏			時間 基準都市*
						100%面積(km ²)	95%面積(km ²)	50%面積(km ²)	
2017/9/21	2017/10/3	12	秋	中継地		39.458	73.053	17.725	A
2017/10/10	2017/11/16	37	秋	滞留地		414.956	392.211	43.312	A
2017/11/23	2017/12/4	11	秋	中継地		1.628	3.660	0.709	D
2017/12/5	2018/1/8	34	冬	滞留地		0.856	1.031	0.094	D
2018/10/18	2018/10/29	11	秋	中継地		233.969	224.781	24.105	A
2018/10/31	2018/11/24	24	秋	滞留地		132.540	286.797	38.724	A
2018/10/18	2018/11/19	24	秋	滞留地	8日間	135.624	105.576	12.996	A
2018/11/23	2018/12/10	17	秋	中継地		65.548	296.505	32.348	A
2018/12/18	2019/1/8	21	冬	滞留地		156.871	270.084	65.304	A
2019/1/24	2019/4/4	70	冬	滞留地		74.006	36.460	1.051	D
2019/5/11	2019/6/3	22	春	滞留地	1日間	44.817	78.915	23.607	A
2019/6/8	2019/7/5	27	春	滞留地		277.719	201.547	30.397	A
2019/7/8	2019/7/16	8	夏	中継地		8.082	20.151	4.382	A
2019/7/20	2019/7/28	8	夏	中継地		120.801	508.600	118.995	A
2019/7/30	2019/10/1	62	夏	滞留地	1日間	338.409	1217.202	237.970	A
2019/10/3	2019/11/12	40	秋	滞留地		581.389	737.350	93.907	A
2019/12/20	2020/1/1	12	冬	中継地		450.957	963.825	186.530	D
2020/1/22	2020/3/18	47	冬	滞留地	9日間	9.068	10.260	1.250	D
2020/4/5	2020/4/14	9	春	中継地		23.982	58.991	9.348	A
2020/4/16	2020/4/29	13	春	中継地		44.135	43.270	5.450	A
2020/7/16	2020/9/7	44	夏	滞留地	9日間	20.515	31.761	5.236	A
2020/9/11	2020/12/8	87	秋	滞留地	1日間	552.373	586.604	99.008	A
2020/12/11	2021/1/22	42	冬	滞留地		58.431	127.461	23.043	A
2021/1/30	2021/2/7	8	冬	中継地		2.774	14.373	3.985	D
2021/2/11	2021/3/7	23	冬	滞留地	1日間	219.754	387.194	59.235	D
2021/4/4	2021/4/23	19	春	中継地	1日未満	30.011	20.977	2.391	A
2021/5/9	2021/5/26	17	春	中継地	1日未満	29.232	44.983	8.871	A
2018/10/18	2018/11/9	18	秋	中継地	4日間	116.557	232.368	33.314	A
2018/11/12	2018/11/20	8	秋	中継地		391.839	1749.753	359.734	A
2018/10/20	2018/11/17	28	秋	滞留地	1日未満	182.147	80.394	7.800	C
2018/11/24	2018/12/24	30	秋	滞留地		36.659	30.991	3.736	D
2018/12/30	2019/1/21	22	冬	滞留地		31.549	17.087	1.584	D
2019/2/1	2019/3/16	43	冬	滞留地		39.970	26.476	3.366	D
2019/5/31	2019/6/17	16	春	中継地	1日間	96.105	108.587	14.367	A
2019/9/17	2019/10/7	19	秋	中継地		257.825	208.392	18.390	B
2019/10/7	2019/11/22	46	秋	滞留地		483.849	758.503	111.999	B
2019/11/27	2019/12/14	17	秋	中継地		0.744	1.753	0.275	B
2020/1/4	2020/2/5	32	冬	滞留地		315.545	310.706	30.712	D
2020/2/16	2020/3/8	21	冬	滞留地		17.273	63.282	8.284	D
2020/3/9	2020/3/16	7	春	中継地		44.642	182.821	36.632	D
2020/4/19	2020/5/2	13	春	中継地		13.166	15.440	2.181	A
2020/5/4	2020/5/18	14	春	中継地		206.584	389.785	80.395	B
2021/2/25	2021/3/6	9	冬	中継地		23.186	48.843	8.960	D
平均						147.106	255.088	43.528	

④ Maxent による生息環境の解析と潜在的な生息地の推定

始めに、項目ごとに選択されたスケールの大きさを表 7-2)-(1)-5 に示す。これらの変数を使用し、

本解析を行った。AUC の値により選択された、地域および日中と夜間の利用地点に対するベストモデルの説明変数の組み合わせおよび各変数の寄与率と重要度、および各モデルの予測精度 (Training AUC) と推定精度 (Test AUC) を表 7-2)-(1)-6) に示した。また、ベストモデルを使用して推定した潜在生息地点の確率地図を図 7-2)-(1)-4) に示した。表 7-2)-(1)-6) より、すべてのベストモデルの予測精度は 0.9 以上と、高い値を示した。また、実在の利用地点に対するモデル推定の精度は、北部の日中の利用地点を除き、0.9 以上と高かった。北部の日中は「湿原の面積」・「標高」、罫は「道路・鉄道までの距離」、南部の日中は「水域の面積」、罫は「海までの距離」、内陸部は日中・罫ともに「水域の面積」の寄与率が最も高かった。落葉樹林面積のスケールは、北部では日中 / 罫で 2000 / 100m、南部では 1500 / 500m であったのに対し、内陸では 100 / 40m が選択された。内陸部は湿地帯が広がっており、森林の割合が北部・南部の海岸と比べて比較的小さいことから、局所的に存在する小面積の森林が重要な要素であった可能性が考えられる。北部では「常緑針葉樹の面積」が日中の利用において 3 番目に寄与率が高くなった。内陸部は日中・罫の利用地点ともに水域面積が寄与率と重要度で最も順位が高かった。オジロワシの主な採餌場所の水域が、湖や河川や沼の内水域に限られる内陸部は、沿岸地域と比べて生息適地がより水辺に依存している可能性がある。なお、解析対象とした滞在地の利用には季節変化がみられ、土地被覆や地形条件以外に、季節別の採餌場や餌資源分布に関わる要素として河川の結氷状況やサケ・マスの遡上範囲を組み込むことで、時系列を考慮した生息適地モデルの構築も可能である。

本研究では、オジロワシの幼鳥・若鳥が利用した地点や周辺の環境について解析し、それらの利用地点から生息適地を推定したものである。実際の利用可能性について検討するためには、行動圏も考慮した解析により、生息適地を抽出する必要があると考えられる。また、土地被覆図の精度が実用可能域に達していない項目がある点については、その項目の生息地要件としての重要性などからモデル精度への影響を検討し、重要な要素である場合には、現実的な保全策の検討資料として適用する上でさらなる改善が必要かもしれない。

極東ロシア地域では、サハリンや沿海地方、カムチャッカ半島でもオジロワシの繁殖集団が生息しており、また、オオワシもアムール川下流域のほか、マガダンやサハリン、カムチャッカ半島にも主要な営巣エリアがある。また、越冬期には両種共に北海道で越冬し、さらに北海道には留鳥と考えられるオジロワシの繁殖集団が生息する。このように、渡り移動や移動分散により広域を利用するオジロワシやオオワシの個体群保全を検討するには、極東の主要な生息域全体で生息適地推定を展開する必要がある。本研究で試行した深層学習法による広域的な土地被覆図の作成手法はまだ確立されていないことから、このような広域をカバーするものとして、既存の土地被覆図を用いる方法が挙げられる。Copernicus Global Land Service

(<https://land.copernicus.eu/global/products/lc>(2021 年 8 月 29 日確認)、解像度 100m) はその一例である。ただし、今回作成した被覆図 (解像度 20m) よりも精度が低いことから、とくに地点データを扱う解析においては、解析に必要な情報が不十分である可能性がある。とりわけオジロワシの主な餌場環境として重要な要素である水域に関しては、幅が狭い河川や湿原の冠水した池が反映されていない箇所が確認されている。したがって、このような既存の被覆図を用いて解析を行う際には、小水域情報を外挿するなど、海ワシ類の生息環境要件にできるだけ対応できるように改

善を施すことが重要と考えられる。本研究の土地被覆図作成において、水域は NDVI を基準として分類しており、この方法を用いることで Sentinel-2 衛星画像から水域のみを抽出して挿入することも可能である。しかし、Maxent モデルの適用には、変数のラスターの解像度をすべて統一する必要があり、既存の被覆図の解像度も挿入したデータと統一しなくてはならない。それにより、解析に用いる変数の作成や解析にかかる時間、境変数ファイルのサイズが膨大となる可能性があり、実行

可能な解像度と解析範囲の組み合わせを十分に検討することが、実行の上では重要であろう。

表 7-2)-(1)-5. Maxent の本解析に用いた変数のスケールの大きさ

変数	選択されたスケール(m)					
	北部		南部		内陸	
	日中	壱	日中	壱	日中	壱
水域	500	1,000	3,000	3,000	1,000	1,000
荒地	500	1,000	1,500	3,000	1,000	1,500
草地・牧草地	2,000	2,000	2,000	2,000	3,000	3,000
湿原	1,000	2,000	2,000	3,000	2,000	2,000
落葉樹	2,000	100	1,500	500	100	40
針葉樹	200	100	3,000	3,000	3,000	3,000
低木林	3,000	1,000	3,000	3,000	2,000	2,000
疎林	1,000	500	1,500	1,500	1,500	1,500
標高	500	1,000	40	100	200	200
斜面方位	2,000	200	3,000	3,000	2,000	2,000

表 7-2)-(1)-6. Maxent 解析によるベストモデルにおける変数の組み合わせと寄与率・重要度および各モデルの予測精度 (Training AUC) と推定精度 (Test AUC)

*表中のーは解析時に変数を挿入していないことを示す。

	北部				南部				内陸部			
	日中		時		日中		時		日中		時	
	寄与率(%)	重要度(%)	寄与率(%)	重要度(%)	寄与率(%)	重要度(%)	寄与率(%)	重要度(%)	寄与率(%)	重要度(%)	寄与率(%)	重要度(%)
水域	0.5	5.9	2.8	4.7	30.3	3.1	—	—	57.8	59.3	58.5	45.9
荒地	8.8	0.3	22.5	6.3	24.2	3.2	17.3	3.3	—	—	6.8	0.9
草地・牧草地	2.6	1.6	0.3	0.3	1.9	2.3	2.5	4.8	1.6	1.8	1.1	2.0
湿原	19.8	12.0	7.9	1.4	14.3	3.9	11.2	2.4	3.6	4.4	4.2	12.1
落葉樹	1.6	4.3	14.2	5.7	4.3	5.6	7.7	3.9	15.8	7.0	16.0	5.8
針葉樹	16.9	13.1	11.4	2.2	—	—	2.6	6.7	2.4	4.3	—	—
低木林	6.6	12.2	3.3	4.9	1.9	4.5	—	—	2.2	9.3	2.1	12.0
疎林	0.3	0.1	0.8	0.2	—	—	6.5	3.4	6.9	8.1	5.0	9.5
居住区までの距離	—	—	6.5	8.5	—	—	22.0	15.2	2.7	1.3	—	—
道路・鉄道までの距離	19.0	30.1	1.7	7.1	0.7	0.7	—	—	0.7	2.3	1.8	5.3
海までの距離	—	—	10.9	16.2	8.4	22.6	21.9	47.9	—	—	—	—
標高	19.8	19.6	17.3	42.3	14.0	54.1	5.4	11.5	6.2	2.4	4.7	6.4
斜面方位	4.1	0.7	0.5	0.2	—	—	2.9	1.0	—	—	—	—
Training AUC	0.987		0.994		0.977		0.981		0.977		0.968	
Test AUC	0.879		0.991		0.979		0.973		0.949		0.966	

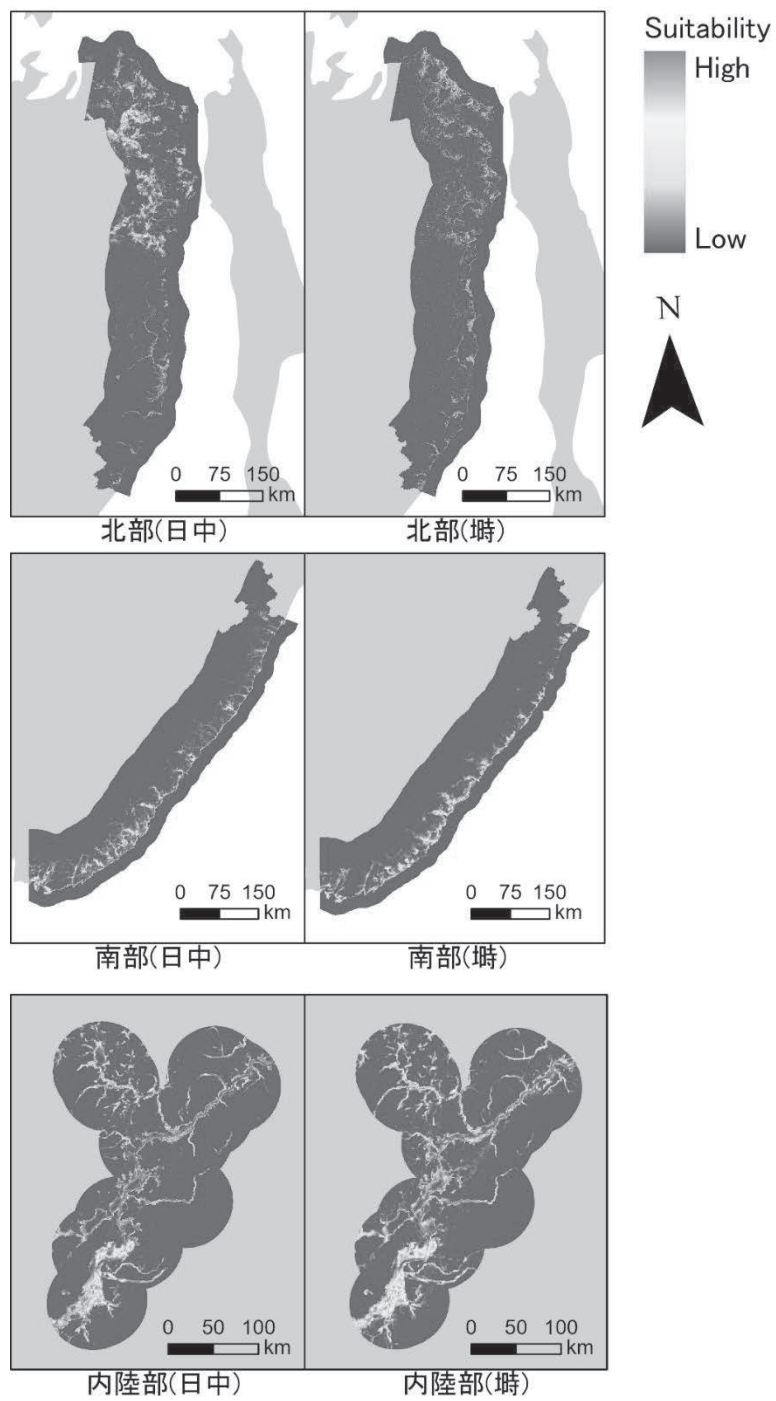


図 7-2)-(1)-4 アムール川中下流域周辺のおジロワシ繁殖地から出生した幼鳥と若鳥の利用地点に基づき、Maxtent 解析から推定された生息適地確率地図

④ 深層学習法による高精度の土地被覆図の作成

ArcGIS Pro のディープラーニングを使用したピクセル分類 (Classify Pixels Using Deep Learning) ツールで出力された土地被覆分類図を図 7-2)-(1)-5 に示した。また、学習の損失関数を図 7-2)-(1)-6 に示した。Training Loss (青線) と Validation Loss (橙線) の差が小さいため学習的には良好といえ、入力した学習データにだけ適用できる過学習は生じていないことが確認できる。

図 7-2)-(1)-5 出力された土地被覆分類図

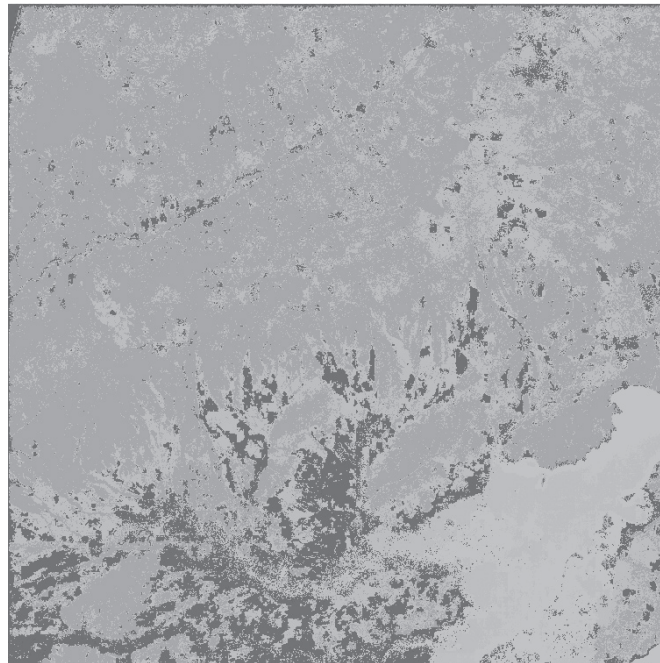
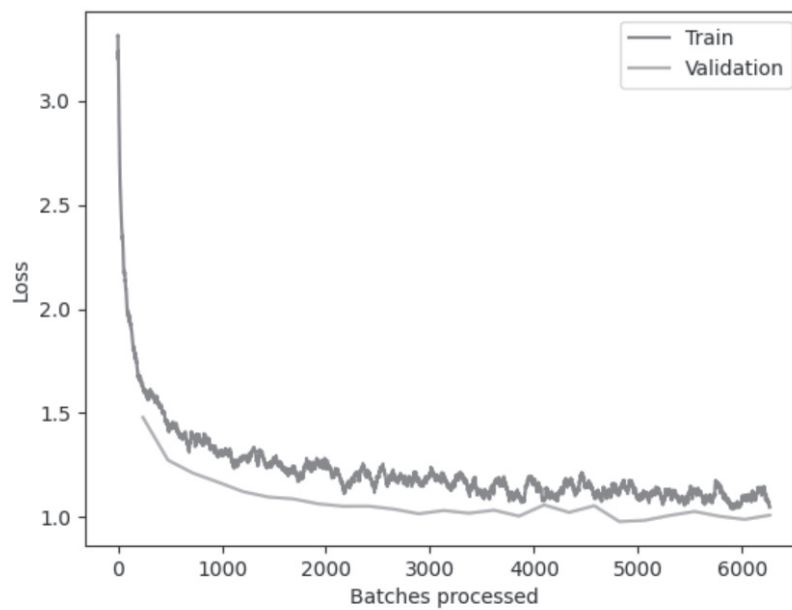


図 7-2)-(1)-6 損失関数



分類結果の精度評価を表 7-2)-(1)-7 に示した。総合的な正確さである OA (Overall Accuracy)は 24.0%となった。湿地と疎林の UA (User's accuracy)は、それぞれ 52%、3.8%であった。疎林の検出率は 3.8%と検出率が低く、草・牧草地と居住区が検出されなかった。これは、学習データがテストデータの双方においてサンプル数が少ないことに起因すると考えられる。

表 7-2)-(1)-7 分類精度評価

教師\予測	水域	砂地	草・牧草地	湿地	落葉樹林	針葉樹林	疎林	居住区	道路	計	PA(%)
水域	276390800	4633200	0	17383200	202689200	446400	67600	0	400	501610800	55.1
砂地	103000000	1247200	0	44257200	79729600	19749200	8400	0	0	155291600	1
草・牧草地	5058000	1779200	0	30729600	115318400	495684400	5600	0	0	648575200	0
湿地	301038800	23981200	0	726310800	1309769600	796806000	154400	0	0	3158060800	23.0
落葉樹林	81926000	15369200	0	293369200	861623200	3009969200	70000	0	0	4262326800	20.2
針葉樹林	372400	1135600	0	12909200	44459600	746051600	1600	0	0	804930000	92.7
疎林	11569600	3459600	0	263677600	612542800	410196800	12400	0	0	1301458800	0.001
居住区	1961200	193600	0	5368000	7046800	4514800	4400	0	0	19088800	0
道路	1024400	293200	0	3532800	6826400	7767200	2400	0	0	19446400	0
計	689641200	52092000	0	1397537600	3240005600	5491185600	326800	0	400	10870789200	-
UA(%)	0	0	0	52.0	26.6	13.6	3.8	0	0	-	24.0

(2)海ワシ類の海域滞在地点と気象・海象との関係性の解析

①海ワシの飛行軌跡

図 7-2)-(2)-1 から図 7-2)-(2)-6 に、方法の表 6-2)-1 に記載した海ワシの飛行軌跡を示す。

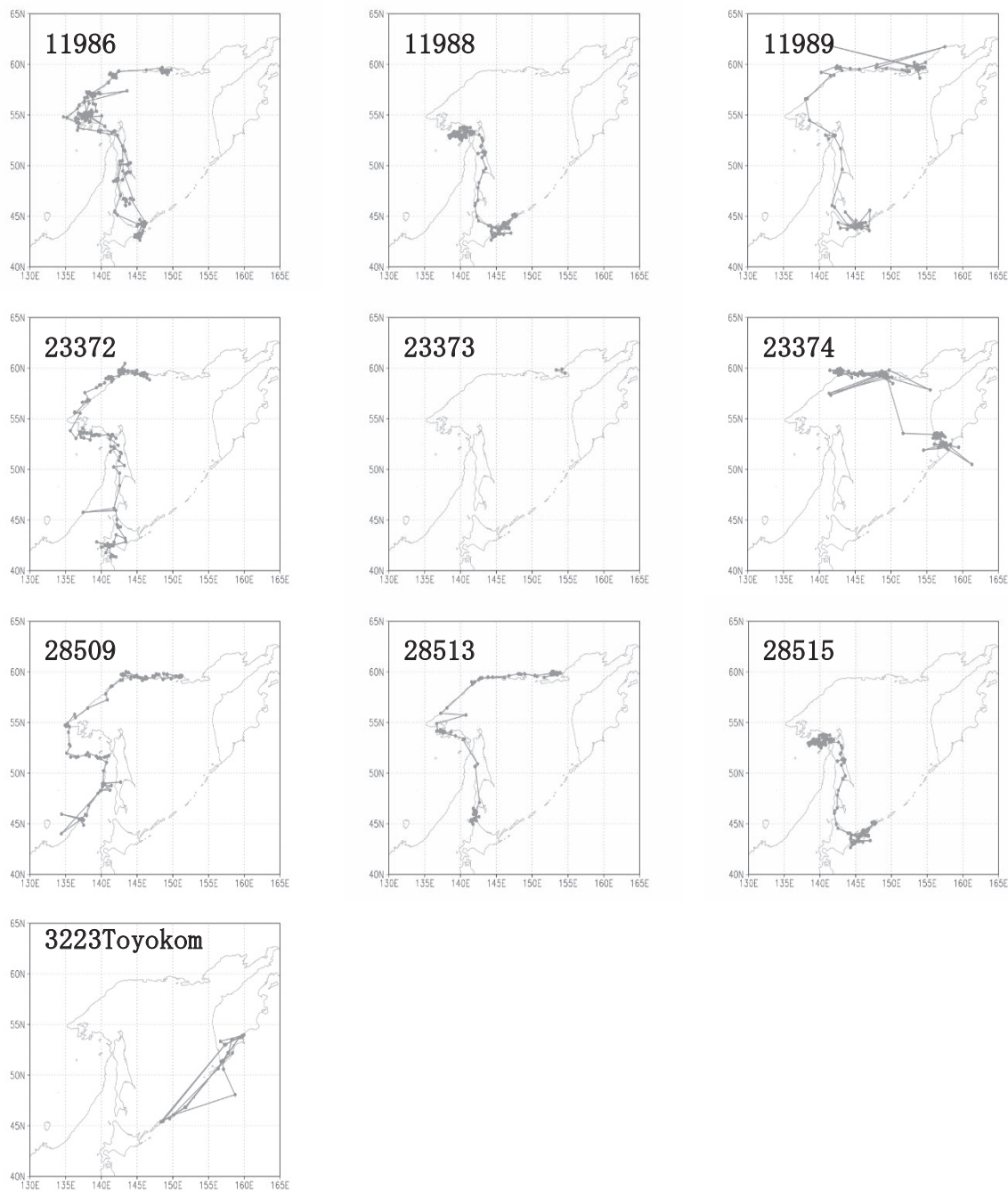


図 7-2)-(2)-1 海ワシの飛行軌跡（追跡開始年：1997 年）

図 7-2)-(2)-1～4 の 2017 年から 2020 年の 3 個体を除き、全ての個体がオホーツク海沿岸で活動していた。これらの 3 個体は沿海州の内陸部で活動しており、海ワシの渡りと気象条件との関係について検討した。また、2020 年 5 月にシャンタルスキー諸島の流水域に滞留していた個体について、海象と海ワシの行動について検討した。図 7-2)-(2)-5、6 に示す 2019

年から 2020 年の海ワシの飛行軌跡について、概略を表 7-2)-(2)-7 にまとめた。

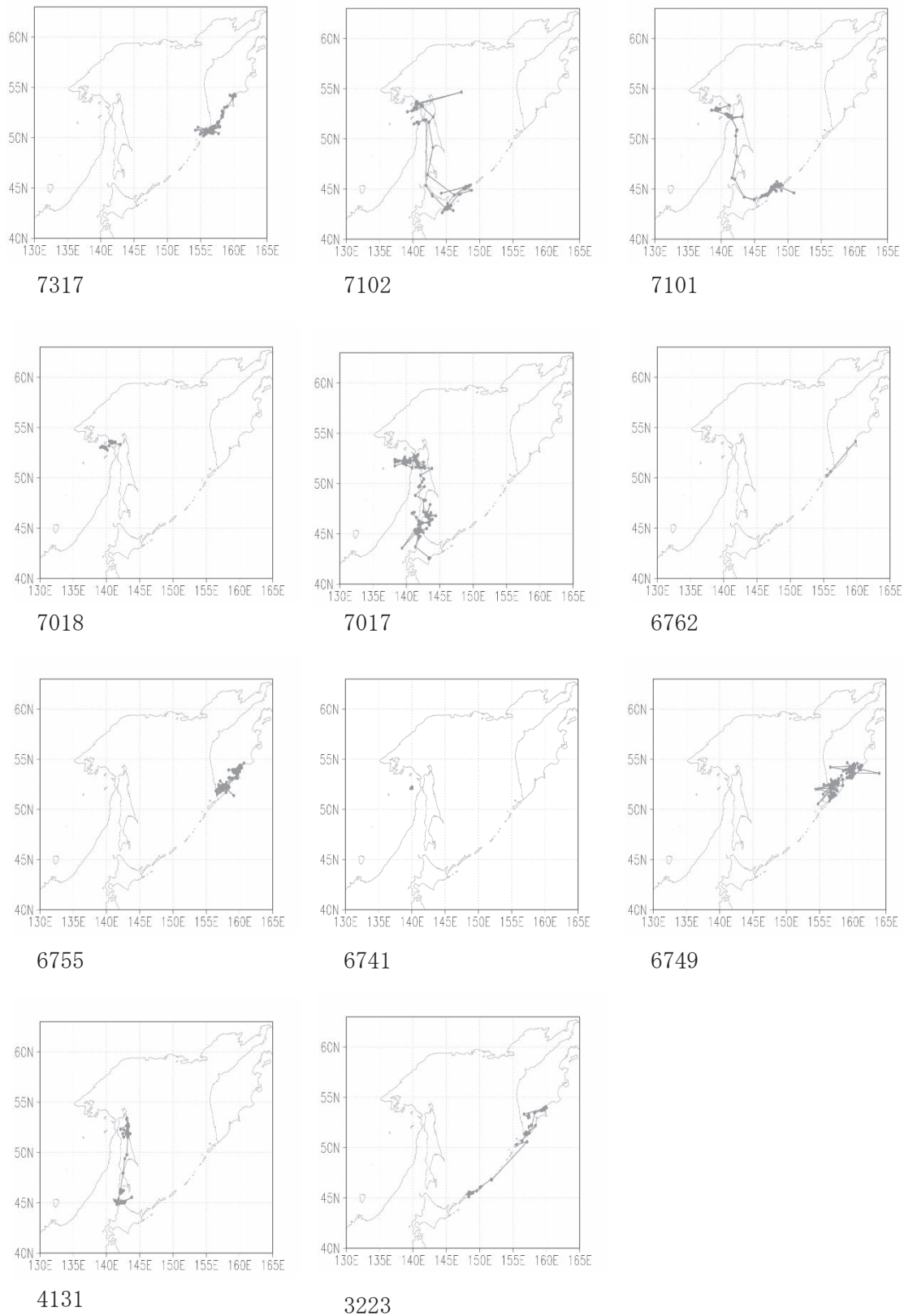
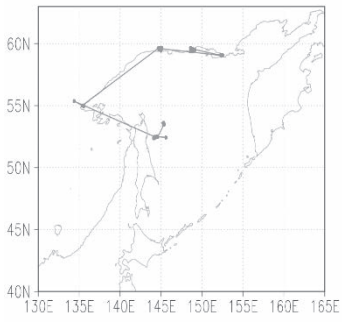
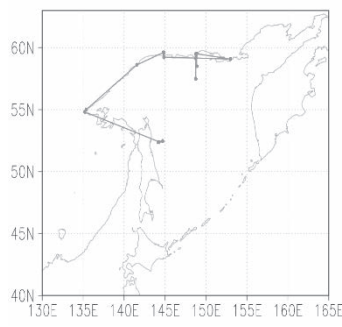


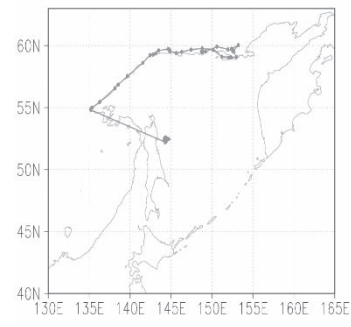
図 7-2)-(2)-2 海ワシの飛行軌跡 (追跡開始年: 1998 年)



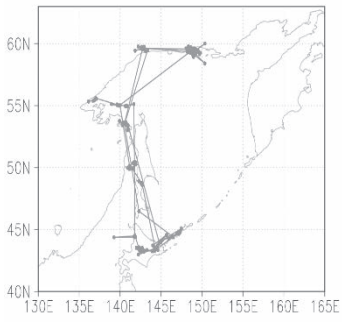
82161a



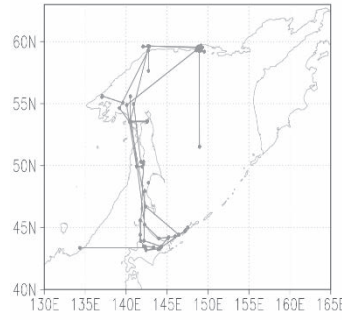
82161e



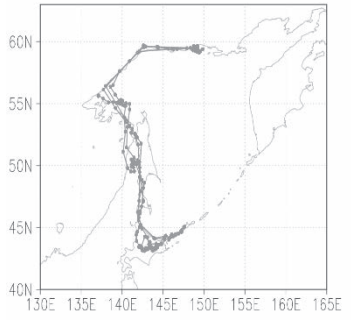
82161g



82163a

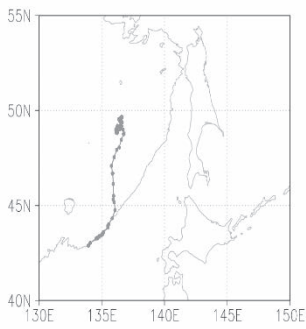


82163e

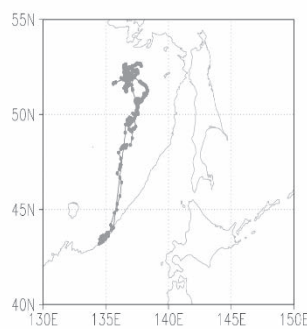


82163g

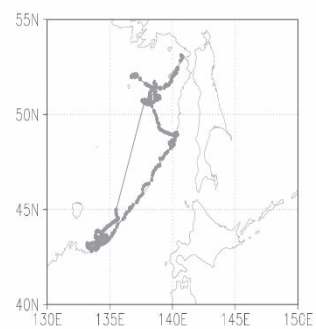
図 7-2)-(2)-3 海ワシの飛行軌跡 (追跡開始年: 2008 年)



tokyo1601

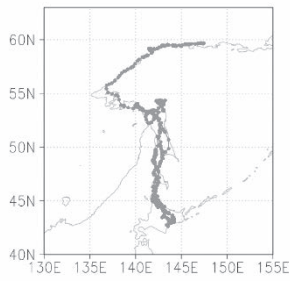


tokyo1802

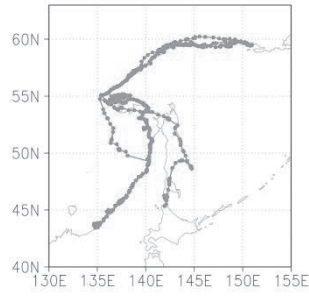


tokyo1804

図 7-2)-(2)-4 海ワシの飛行軌跡 (追跡開始年: 2017 年~2019 年)

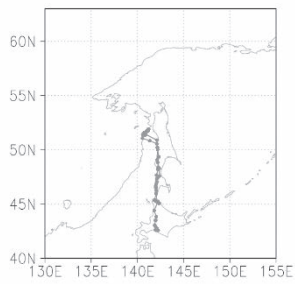


182888

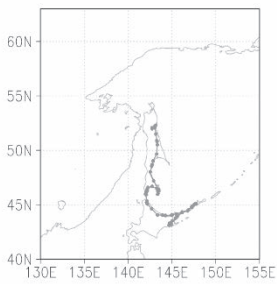


182889

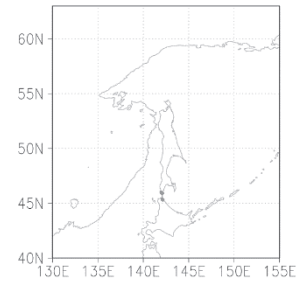
図 7-2)-(2)-5 海ワシの飛行軌跡 (2019 年~2020 年)



182887



190535



TK1901

図 7-2)-(2)-6 海ワシの飛行軌跡 (2020 年)

表 7-2)-(2)-5 2019 年から 2020 年に追跡調査をした海ワシの行動概略

個体番号	期間	概略
182887	2020 年 3 月 1 日～ 2020 年 12 月 12 日	北海道の日高地方を出発しサハリン経由で北上，3 月下旬にロシアへ到達し 11 月まで滞在，その後同じ経路で南下し，11 月中旬には北海道の稚内に到達し滞在した。
182888	2019 年 9 月 1 日 ～2020 年 12 月 1 日	ロシアのハバロフスク沖に沿って南下しサハリンを経由して 2019 年 12 月上旬に道東に到達し，2020 年 4 月上旬に再びサハリンへ移動し 1 か月程度かけて徐々にサハリンの最北端まで北上，同年 11 月まで付近に滞在その後再び北海道へ渡った。
182889	2019 年 9 月 1 日～ 2020 年 12 月 5 日	ロシアのマガダン沖を南下し，2019 年 11 月初頭から中旬にかけて内陸を移動後，2020 年 1 月中旬にウラジオストクに到達，3 月下旬まで滞在，その後半年間かけてハバロフスク沖を徐々に北上し続け，元々生息していた地点で 7 月から 10 月まで滞在し，その後海岸線に沿って南下し，サハリンの東側を経由して北海道へ渡った。
190535	2020 年 10 月 1 日 ～2020 年 12 月 5 日	11 月上旬にサハリンから南下を開始し，中旬に北海道の稚内に到達，その後オホーツク沿岸を渡り，知床半島から択捉島経由で釧路へ飛行した。
TK1901	2020 年 11 月 4 日～ 2020 年 11 月 9 日	サハリンの南端から北海道の稚内へ移動した。

⑤ 海ワシの移動と気象との関係

緯度・経度・高度の情報が比較的多い図 7-2)-(2)-1～4 に示した 2018 年の 2 個体 (tokyo1802、tokyo1804) に着目した。図 7-2)-(2)-7 に示すように、両個体の緯度情報の時系列から、2018 年 10 月以降に数回大きく南下していることがわかる。南北方向の移動に着目すると、両個体とも 10 月中旬までは多少の動きがあるがほぼ北緯 53°付近に滞在し、2018 年 12 月には最終的に北緯 43°付近まで南下しており、渡りの始発と終着領域はほぼ同じであった。最大で 1 日に約 500km も移動する日があった (図 7-2)-(2)-7 上図および中図)。

しかしながら、両個体の南下のタイミングが異なっており、tokyo1802 は、10 月中旬には大きく南下し、tokyo1804 は 2018 年 11 月頃まで同じ地点に滞在し、11 月下旬に南下を始めていた。移動後は再び同じ領域に 1 ヶ月程度滞在し、さらに南下する傾向が見られた。2019 年 1 月末以降はほぼ同じ緯度・経度に到達しており、両個体は同じ領域で越冬したと考えられる。再南下する時期や 1 日に進む距離は個体により異なっていた。

鉛直方向の移動について着目すると、平地では概ね 50～200m の高度を飛行しており、時折高

度 1000m 以上を飛行している (図 7-2)-(2)-7 下図)。

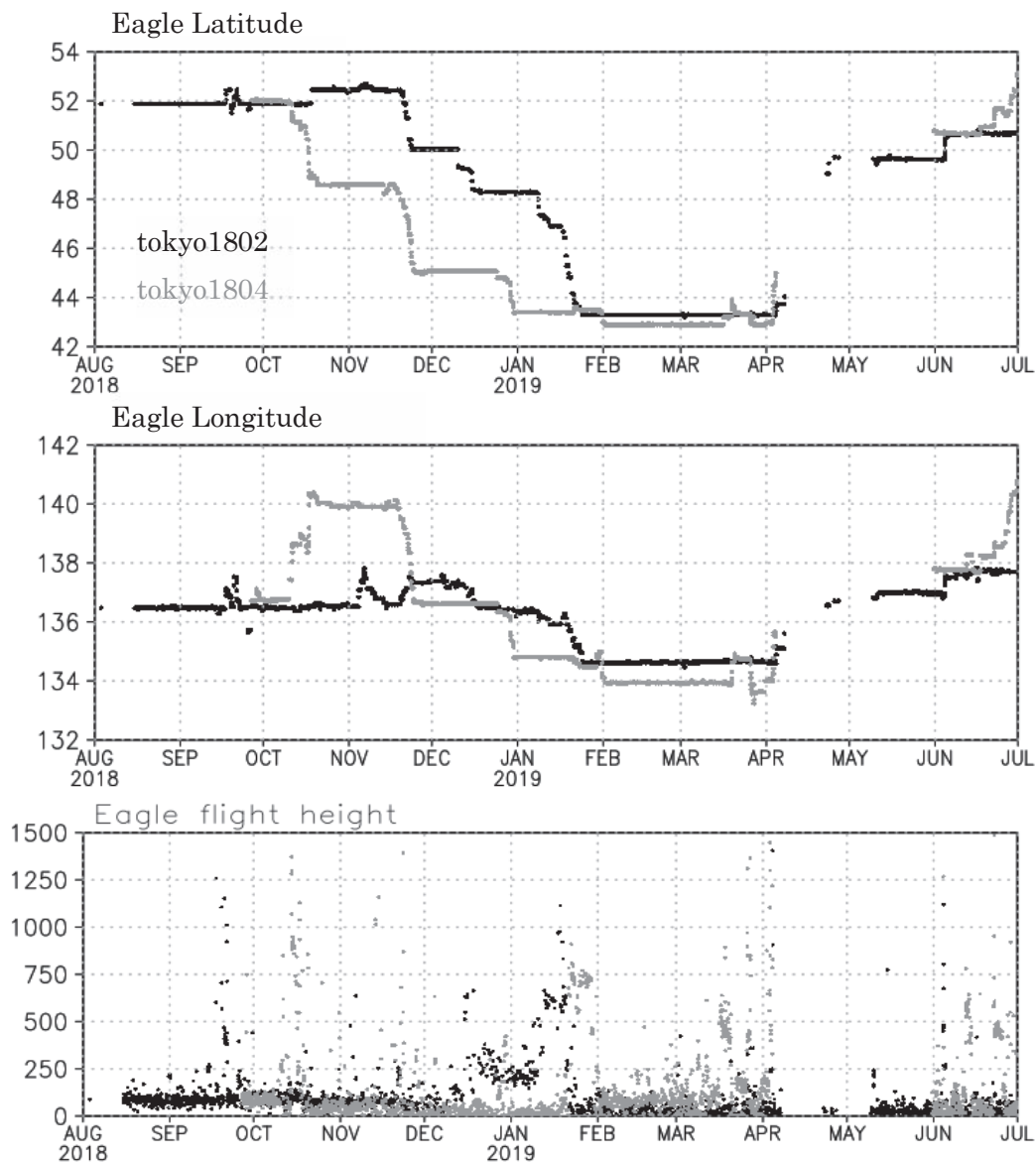


図 7-2)-(2)-7 海ワシの緯度 (上図), 経度 (中図), 高度 (下図) の時系列を表している。黒点は tokyo1802, 赤点は tokyo1804 の情報を示している。

図 7-2)-(2)-8 は、図 7-2)-(2)-7 に示した海ワシの緯度・経度・高度に加えて、飛行位置の風速と気温を示している。海ワシの 2 個体は 10 月頃まで 8m/s 以下の風速下では滞在していることが多く、11 月中旬以降は比較的風速が強い (10~22m/s) 時期に飛行しており、風速の強さが海ワシの移動要因になっていることがわかった。この強い風は、低気圧の影響を受けていることが考えられる。また、11 月中旬以降は気温が大幅に低下し、海ワシの滞在位置でも -20°C 以下に達することもあった。気温の大幅な低下後に海ワシが移動していることや再度温度が上昇していること

から、温度が一定下になると移動することを示しており、気温も海ワシの移動のタイミングを決定する指標の一つであることを示唆している。

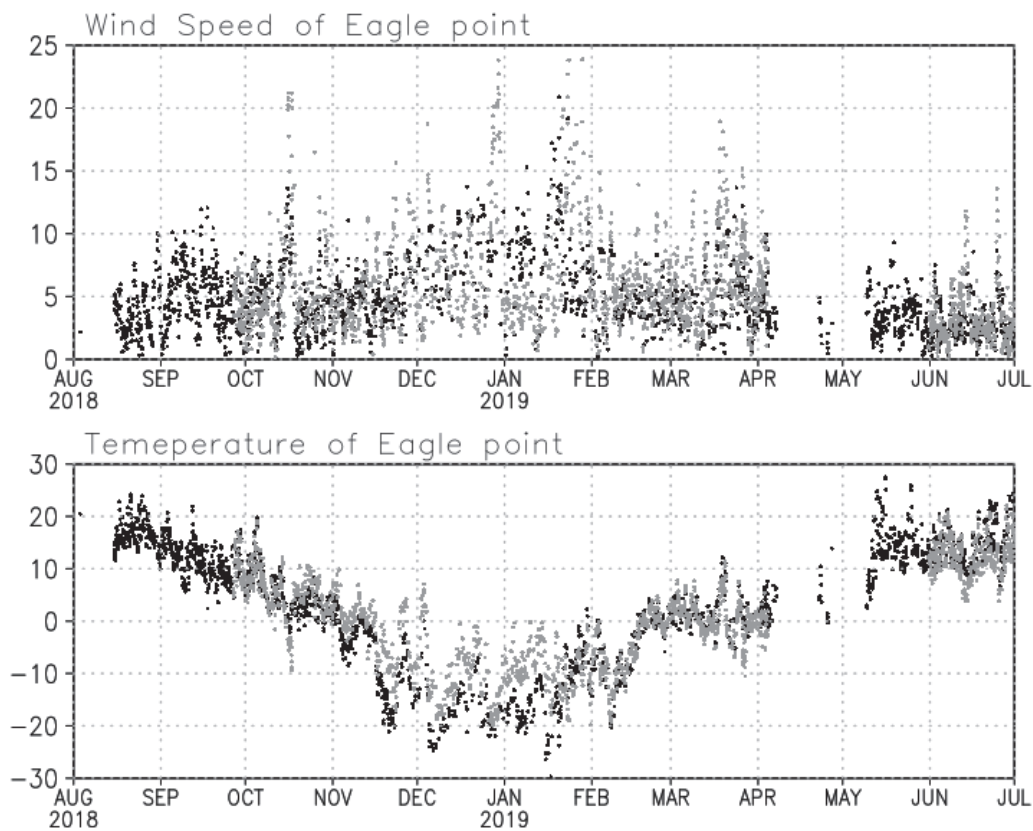
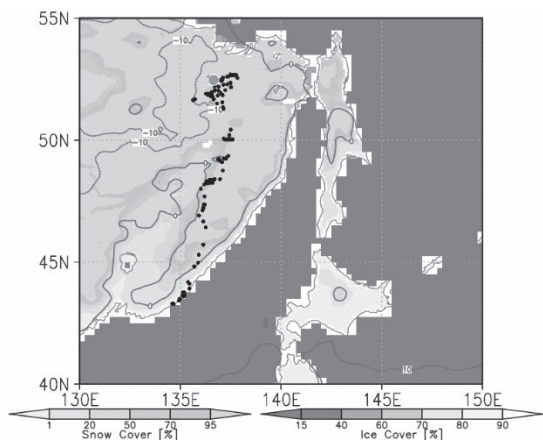
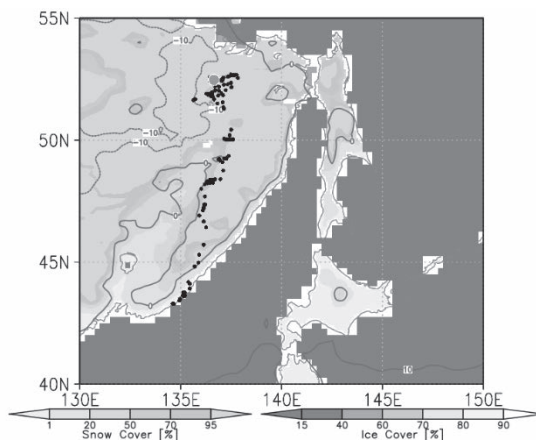


図 7-2)-(2)-8 図 7-2)-(2)-7 に加えて、海ワシの飛行位置（緯度・経度・高度）の風速（上図）、気温（下図）の時系列を示したもの。黒点は tokyo1802、赤点は tokyo1804 の情報を示している。

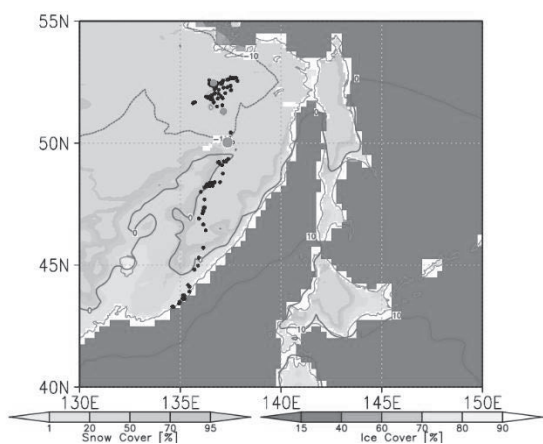
南下のタイミングと気象条件を明らかになるため、海ワシの大きな移動前後の気温と雪の分布と地上気温の変動を調べた（図 7-2)-(2)-9、図 7-2)-(2)-10）。tokyo 1802 の滞在地周辺は餌場となる湖が存在しており、移動前後で雪の分布に大きな違いはなかったものの、移動前後で地上気温に大きな違いが見られた。移動後には移動前の地点で -20°C を下回っており、気温の急激な低下で餌場の湖が凍結してしまい、南下を開始したと考えられる。



移動前 (2018/11/14)



移動中 (2018/11/22)



移動後 (2018/11/27)

図 7-2)-(2)-9 tokyo1802 の渡り経路 (大移動) と雪の分布の関係。

一方、tokyo1804 の移動前の地点では、移動後に積雪で覆われた面積が増加しており、餌となる生物の移動に合わせて海ワシも移動したことが考えられる。

これらの結果から、海ワシ類の餌となる生物が地上の気象状況の影響を受けており、地上の気象状況の変化が海ワシの南下のタイミングと関係していることが示唆された。

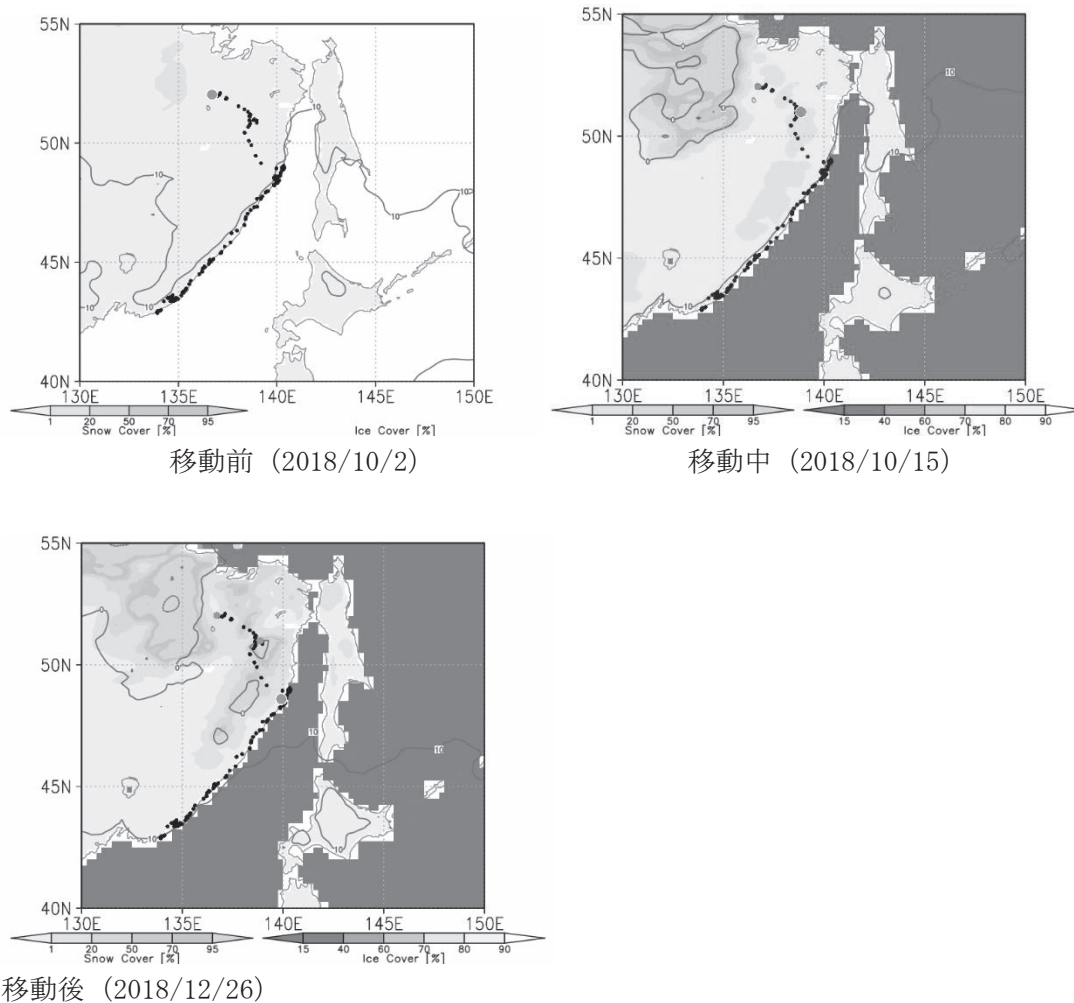


図 7-2)-(2)-10 tokyo1804 の渡り経路（大移動）と雪の分布の関係。

図 7-2)-(2)-11 は 2020 年 5 月にオホーツク海に滞在していた個体の全飛行経路と 2020 年 5 月の 1 ヶ月平均の海氷密接度を示している。海ワシは 2020 年 5 月頃に融解せずに残っている海氷上に滞在し、海氷が融解して消滅した 6 月以降は大陸上に移動してオホーツク海沿岸を北上していた。このことから、海氷の存在も海ワシの行動に大きく影響していることが示唆された。

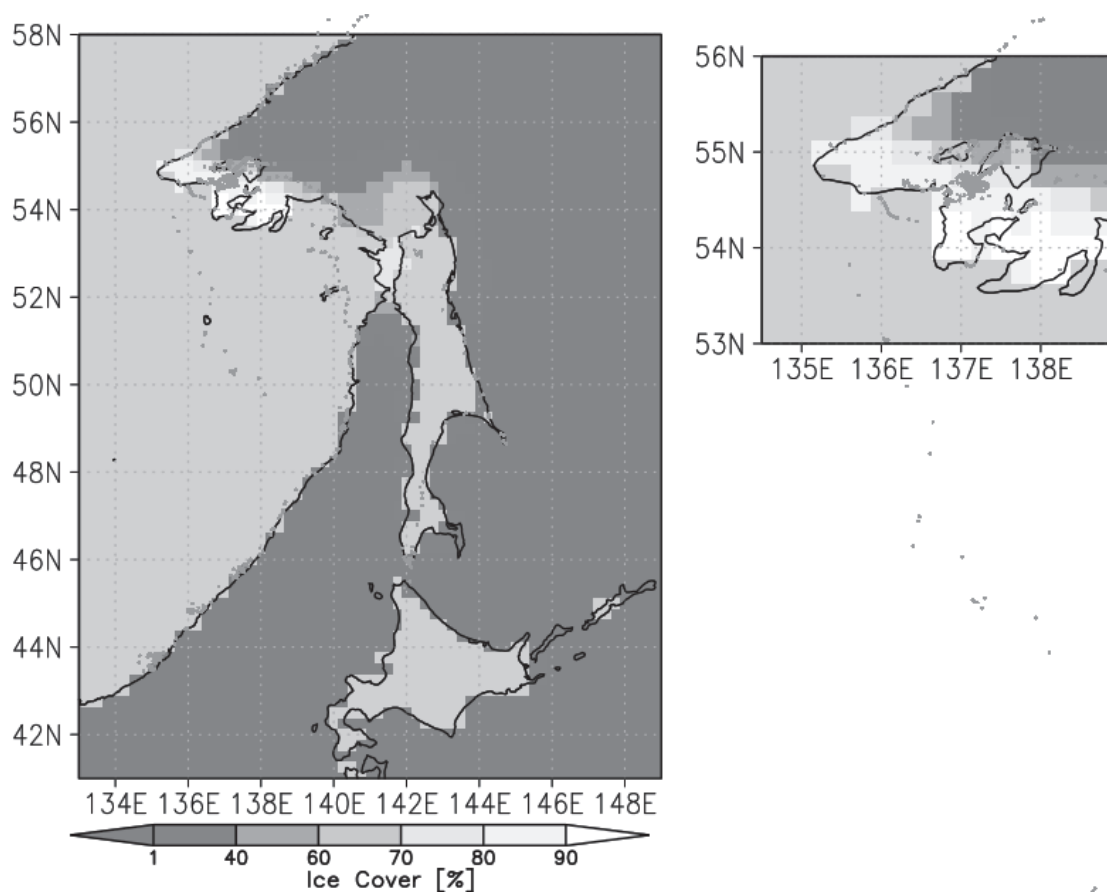


図7-2)-(2)-11 2020年5月の1ヶ月平均の海氷密接度（色：%）と海ワシの飛行位置（赤点）。右図は、左図の一部を拡大した図。

3)海ワシ類の主要餌種の生息状況の把握・推定

(1)網走周辺水域における採集による魚類調査

①能取湖・網走湖での小型定置網調査

小型定置網によって能取湖で採集された魚類とその採集個体数、平均体長を表 7-3)-1 に、網走湖における同様の結果を表 7-3)-2 に示した。データは 2019 年 6・7・10 月と 2020 年 10・11 月の計 5 回の調査結果を合算して示し、表中の魚種は採集された個体の平均体長の大きな順に配列した。

能取湖では計 27 種 346 個体、網走湖では計 14 種 9321 個体が採集された。個体数が多かったのは能取湖ではチカ、網走湖ではワカサギでどちらも平均体長が 10 cm 未満で群性・遊泳性の小型魚だった。海ワシ類にとってこの様な小型魚は餌としての利用価値が低く、かつ捕まえにくいと考えられるので、平均体長の上位 3 種を見ると、能取湖ではコマイ、マルタウグイ、エゾアイナメ、網走湖ではサケ、アメマス、ドジョウだった。

能取湖の平均体長上位 3 種のうち最も個体数が多かったのはエゾアイナメで、次いでマルタウグイ、コマイの順だった。エゾアイナメは底生性のいわゆる根付き魚種で、海面表層を常に遊泳するタイプではない。また、縄張り行動をとるため、通常群れで集まるようなことはないことから、海ワシ類の重要な餌魚種となる可能性は低い。マルタウグイは回遊魚で川から沿岸にかけて生息し、春の産卵期には川へ遡上して産卵する。食性は雑食性で主に底生無脊椎動物を食べるため、それら餌生物が多い浅い水域を遊泳している。したがって、早春には海ワシ類にとって利用しやすい魚種になる可能性がある。コマイは能取湖では通年採集され、群れで移動しているため、定置網ではまとまって採集されることが多い。産卵期は冬季 1~3 月で、岸近くで産卵する。結氷していない岸近くの開放海面では冬季の重要な餌魚種になる可能性が考えられる。また、能取湖で採集された魚類で平均体長が 10 cm 以上の魚種を見ると、カレイ類が 4 種含まれ、そのうちクロガレイは採集個体数も第 2 位であった。カレイ類は一般に底生性で底生無脊椎動物を摂餌しているが、今回の小型定置網で採集されたように、移動するために海中をたびたび遊泳している。カレイ類の体形は強く側扁し両眼が体側部に移動していて、海中を遊泳する際には両眼のある体側面を上に向けるため上空から視認しやすく、能取湖で種類数、個体数が多いカレイ類は海ワシ類の餌魚種になりやすいと考えられる。

網走湖の平均体長上位 3 種のうち最も個体数が多かったのはアメマス、サケ、ドジョウの順だった。網走湖のこれら 3 種のうち、サケは川へ遡上する 10~11 月に網走湖内にも数多く出現し、浅い湖岸水域にも姿を現す。本調査ではカラフトマスは採集されなかったが、個体数が多く秋から冬季の河川内に集中分布するサケマス類は海ワシ類の最も重要な餌魚種である。一方、平均体長第 3 位のドジョウの個体数は女満別で採集された 1 個体のみだった。網走周辺に生息するドジョウはキタドジョウと提唱されている大型種であるが、主な生息域は網走湖南岸から上流側の河川水域や農地内の水草が多い水路で個体数は多くなく、活発に遊泳移動するのが主に夜間であると考えられるため、海ワシ類の重要な餌魚種になるとは考えにくい。そこで、平均体長第 4 位に着目するとウグイ類であり、平均体長約 20 cm、個体数も 591 個体でワカサギに次いで 2 番

目に多かった。ウグイ類には複数種（ウグイ、エゾウグイなど）が含まれるが、網走湖ではワカサギや小型のハゼ類に次いで個体数が多く、湖面表層を群れて遊泳移動しているため、海ワシ類の餌魚種になる可能性があると考えられる。また、平均体長第5位はヌマガレイで、能取湖のカレイ類同様の理由で海ワシ類の餌魚種になる可能性があると考えられる。

以上のように、能取湖・網走湖で海ワシ類の主要な餌になる可能性がある魚種を、平均体長、生態、個体数から検討すると、秋から結氷するまではサケマス類、冬季から秋までの開放水面ではコマイ、カレイ類、ウグイ類が挙げられると考えられる。

表7-3)-1 能取湖で採集された魚類（2019-2020）と平均体長

和名	学名	総個体数	平均体長 (mm)
コマイ	<i>Eleginus gracilis</i>	6	275.2
マルタウグイ	<i>Tribolodon brandtii</i>	15	254.4
エゾアイナメ	<i>Hexagrammos stelleri</i>	22	226
クロガシラガレイ	<i>Pleuronectes schrenki</i>	1	206.4
ムロランギンボ	<i>Pholidapus dybowskii</i>	7	206.2
キュウリウオ	<i>Osmerus mordax dentex</i>	4	192.4
スナガレイ	<i>Limanda punctatissimus</i>	1	188
ギスカジカ	<i>Myoxocephalus stelleri</i>	3	168
エゾメバル	<i>Sebastes taczanowskii</i>	2	163.8
シモフリカジカ	<i>Myoxocephalus brandti</i>	9	160.4
ヌマガレイ	<i>Platichthys stellatus</i>	4	146.3
クロガレイ	<i>Pseudopleuronectes obscurus</i>	57	137.3
オクカジカ	<i>Myoxocephalus jaok</i>	1	135.4
クロノイ	<i>Sebastes schlegeli</i>	30	130.8
ガジ	<i>Opisthocentrus ocellatus</i>	4	126.4
ヤギウオ	<i>Pallasina barbata</i>	1	109
シチロウウオ	<i>Brachyopsis rostratua</i>	1	100
チカ	<i>Hypomesus japonicus</i>	91	94.2
シワイカナゴ	<i>Hypoptychus dybowskii</i>	1	71.3
マフグ	<i>Takifugu porphyreus</i>	2	65.5
ヘビハゼ	<i>Gymnogobius mororanus</i>	1	56.9
シラウオ	<i>Salangichthys microdon</i>	23	51.9
アシシロハゼ	<i>Acanthogobius lactipes</i>	10	32.5
ハナジロガジ	<i>Opisthocentrus tenuis</i>	31	31
ハコダテギンボ	<i>Rhodymenichthys dolichogaster</i>	2	29.3
カタクチイワシ	<i>Engraulis japonicus</i>	1	29
イトヨ	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	16	22
個体数合計		346	

表7-3)-2 網走湖で採集された魚類 (2019-2020)とその平均体長
地点

種名	学名	大曲	女満別	総個体数	平均体長 (mm)
サケ	<i>Oncorhynchus keta</i>	2		2	597
アメマス	<i>Salvekinus leucomaenis leucomaenis</i>	2	4	6	205.6
ドジョウsp.	<i>Misgurnus sp.</i>		1	1	203
ウグイ spp.	<i>Tribolodon spp.</i>	81	510	591	182.4
ヌマガレイ	<i>Platichthys stellatus</i>	4	1	5	143.5
ワカサギ	<i>Hypomensius nipponensis</i>	4151	4181	8332	86.9
ウキゴリ	<i>Gymnogobius urotaenia</i>	2	5	7	82
シラウオ	<i>Salangichthys microdon</i>	32	4	36	62
イトヨ(日本海型)	<i>Gasterosteus sp.</i>	23	10	33	55.3
アシシロハゼ	<i>Acanthogobius lactipes</i>	12	4	16	54.5
ウキゴリ sp.	<i>Gymnogobius sp.</i>	8		8	48.3
ヌマチチブ	<i>Tridentiger obscurus</i>	249	11	260	44.3
トミヨ	<i>Pungitius sinensis</i>	1	18	19	41.6
ヨシノボリ	<i>Rhinogobius sp.</i>		5	5	33.5
個体数合計		4567	4754	9321	

②北海道オホーツク海側主要河川の魚類調査

網走周辺の河川において海ワシ類の主要な餌となり得る魚類の生息状況について、既往調査結果ならびに興部川での現地調査から検討した。このうち、2020年10月、11月に実施した興部川調査では、実施時期が遅かったことや、数カ所の大規模な落差工を含む河川改修が予想以上に実施されており、魚類を採集することが十分できなかった。そこで、本報告では国土交通省により網走周辺の1級河川で5年ごとに実施されている河川水辺の国勢調査の過去5回分の調査結果に基づいて、河川に生息する主な魚類の特徴についてまとめることとした。

北海道オホーツク海側の1級河川（渚滑川・湧別川・常呂川・網走川）について、既往調査結果を整理し、生息魚種とその平均体長、生態型についてまとめた結果を表7-3)-3

に示す。なお、魚類は平均体長の大きな順に配列した。これまでの調査で確認された魚種は4河川で合計33種であり、コイ科、サケ科、ハゼ科のほかドジョウやトゲウオ、カレイ科の魚種が採集されている。採集個体数で最も多かったのはウグイ類（ウグイとウグイ類を合算）で、次いでフクドジョウ、ワカサギの順だった。平均体長が30cm以上の魚種は計11種でそのうち5種がサケ科で、その他はヌマガレイ、ボラ・メナダ、コマイ、ウグイ・マルタウグイだった。これらの中で個体数が最も多かったのはウグイで、次いでサケ、ヌマガレイだった。すでに結果①でも述べたように、河川へ産卵のために遡上するサケマス類は秋から冬にかけて海ワシ類の重要な餌である。また、ウグイ類は4河川全てで優占しており、網走湖と同様にヌマガレイと合わせて通年餌として利用可能な最も一般的な魚種であると考えられる。ボラ・メナダは河川下流部の汽水域が主な生息場所で個体数も多くないことから、主要な餌としては考えにくい。

以上のように、①の能取湖・網走湖の調査結果と合わせると、網走周辺の河川と湖沼で海ワシ類にとって主要な餌となる可能性がある魚種は共通していた。特に河川に注目すれば、秋から結氷するまではサケマス類、冬季から秋までの開放水面ではカレイ類、ウグイ類が挙げられると考えられる。

表7-3-3 網走周辺の1級河川に生息する魚類の体長、生息数と生態型の概要

和名	学名	体長 (cm)		採集個体数*1					生活型	食性	摂餌型	産卵
		平均	最大	網走川	常呂川	湧別川	清滑川	個体数計				
ギンザケ	<i>Oncorhynchus kisuich</i>	71	108	1				1	回遊性	肉食性	水柱食者	砂礫性
ニジマス	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	60	122	66	82	54	60	282	淡水性	肉食性	水柱食者	砂礫性
サケ	<i>Oncorhynchus keta</i>	58	100	496	888	775	32	2191	回遊性	無脊椎動物食性	水柱食者	砂礫性
ヌマガレイ	<i>Platichthys stellatus</i>	57.5	91	281	446	129	193	1048	回遊性/海水→淡水性	無脊椎動物食性	底生食者	沿岸
アママス	<i>Salvelinus leucomaenis leucomaenis</i>	55	120	253	307	12		572	回遊性	肉食性	水柱食者	砂礫性
カラフトマス	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	50.5	76	110	118	76	147	451	回遊性	肉食性	水柱食者	砂礫性
ボラ	<i>Mugil cephalus</i>	50	100		84			73	回遊性	植物食性	底生食者	沿岸
メナダ	<i>Liza haematocheilus</i>	50	80	73				73	回遊性	植物食性	底生食者	沿岸
コマイ	<i>Eleginus gracilis</i>	40	55				3	3	海水性/汽水性	無脊椎動物食性	底生食者	沿岸
ウグイ	<i>Tribolodon hakonensis</i>	30	50	2428	1578	989	1695	6690	回遊性/淡水性	雑食性	底生食者	砂礫性
マルタウグイ	<i>Tribolodon brandtii maruta</i>	30	60	190		7	1	198	回遊性	雑食性	底生食者	砂礫性
カワヤツメ属の一種	<i>Lethenteron</i> sp.	16.1	63	315	3395	333	503	4546	回遊性/淡水性	植物食性	底生食者	砂礫性
エノハナカシカ	<i>Cottus amblyostomus</i>	15	25			17	32	49	淡水性	無脊椎動物食性	底生食者	石礫性
ギンブナ	<i>Carassius auratus langsdorffi</i>	15	39	598	51			649	淡水性	雑食性	底生食者	植物性
キュウリウオ	<i>Osmerus mordax denrex</i>	14.9	34		5	2		7	回遊性	無脊椎動物食性	底生食者	砂礫性
カタチイワシ	<i>Engraulis japonicus</i>	14	18	4				4	回遊性	植物食性	水柱食者	内漂
フクシヨウ	<i>Barbatula barbatula</i>	12	21	945	1767	2366	2294	23262	淡水性	雑食性	底生食者	砂礫性
ウキコリ	<i>Gymnogobius urotaenia</i>	11.5	14	442	1277	1713	341	3773	回遊性	無脊椎動物食性	底生食者	砂礫性
キンギョ	<i>Carassius auratus</i>	10	48		1			1	淡水性	雑食性	底生食者	植物性
ルリシソボリ	<i>Rhinogobius nizaonoi</i>	10		101	4			105	回遊性	雑食性	底生食者	砂礫性
ウカサギ	<i>Hypomesus nipponensis</i>	10	17	10004	52	53	5	10114	回遊性/淡水性	無脊椎動物食性	底生食者	砂礫性/植物性
シマウキコリ	<i>Gymnogobius oppertensis</i>	9	10		84	201	454	739	回遊性	無脊椎動物食性	底生食者	砂礫性
アシロハゼ	<i>Acanthogobius lactipes</i>	8	9.4	163	260	96	14	533	汽水性	雑食性	底生食者	砂礫性
シラウオ	<i>Salangichthys microdon</i>	8	10	855		1		856	汽水性	無脊椎動物食性	底生食者	砂地性
トウヨシソボリ	<i>Rhinogobius</i> sp.	7		626	48		17	692	回遊性	無脊椎動物食性	底生食者	砂礫性
イトヨ属の一種	<i>Gasterosteus</i> sp.	5.1	11			3		3	回遊性/淡水性	無脊椎動物食性	底生食者	植物性
トヨ属の一種	<i>Pungitius</i> sp.	5	9	31	3			34	淡水性	無脊椎動物食性	底生食者	植物性
ヒリソコ	<i>Gymnogobius braunigii</i>	5	8	259	15			274	汽水性	無脊椎動物食性	底生食者	砂地性
ヨシソボリ属の一種	<i>Rhinogobius</i> sp.	4.5	5.8	7				7	回遊性	無脊椎動物食性	底生食者	砂礫性
ウグイ属の一種	<i>Tribolodon</i> sp.			627	4892	6396	5845	17560	回遊/淡水性	雑食性	底生食者	砂礫性
エノイワナ	<i>Salvelinus leucomaenis leucomaenis</i>		70	26	100		6	132	淡水性	無脊椎動物食性	水柱食者	砂礫性
サヨリ	<i>Hyporhamphus sajori</i>		40	30				30	回遊性	無脊椎動物食性	水柱食者	植物性
ヌマチチブ	<i>Tridentiger brevispinis</i>		11	3288	7	60	1	3350	回遊性	雑食性	底生食者	石礫性
				個体数計	22218	31166	13297	11721				

*1 生息種と個体数は国土交通省「河川水辺の国勢調査」の過去5回分の合計

(2)これまでの研究結果に基づく海ワシ類の主要餌魚種とその重要な生息域の推定

本分担課題に関するこれまでの研究では、①主たる繁殖地であるアムール川流域でのワシの残餌に関する現地調査と現地での情報収集、②主たる越冬地である北海道網走周辺水域に生息する魚類の採集及び環境 DNA 調査、そして③海ワシ類の摂餌生態及び餌魚種の生態の既往調査に関する文献調査を実施してきた。ここではこれまでの研究結果に基づいて、繁殖地から越冬地を含むオホーツク海を中心とした地理的範囲における主要な餌魚種とそれらの魚種の生息場所について整理した。

まず、アムール川水系中下流部で海ワシ類の餌となる可能性がある魚類について、魚類相に関する既往調査研究結果ならびに 2018 年 12 月に行ったロシア科学アカデミー極東支部水生生態学研究所 A. L. Antonov 氏からの聞き取りに基づいてまとめ整理した結果を表 7-3)-4 に示す。その結果、アムール川水系中下流部で海ワシ類の餌となる可能性がある魚類は計 29 種があげられた。アムール川水系では 123 種の魚類が確認されているが (Bogutskaya et al. 2008)、種構成の中心はコイ目でアムール川水系固有種や水産養殖のための外来種など多様な種が含まれる。コイ目にはフナ、コイ、ウグイなど北海道東部の魚類と共通する生態的地位を占める種が含まれるほか、大型の魚食性の種も数多く生息している。サケとカラフトマスは河川を遡上する晩夏から秋にかけて最も主要な餌であると言えるが、通年数多く生息しているコイ目魚類は海ワシ類の重要な餌になっていると考えられる。ウグイ亜科の *Leuciscus waleckii* (Amur ide) は網走周辺のウグイ類と同様にアムール川水系でも個体数が多く、かつ成魚の体長が 30 cm 台で餌魚種として利用される可能性が高いと考えられる。これらコイ科魚類の多くは底生遊泳性 (benthopelagic) で水面表層から底層にかけて遊泳する。したがって、それらの遊泳行動が海ワシ類に視認されることも多いと予想される。しかしながら、表 7-3)-4 で示した魚類のより詳細な生態や生息分布に関してはロシア側研究者の研究成果が数多くあると考えられるが、その成果を収集検討することは本研究では実施できず、集めることができたのは魚類相全体に関することが主だった。したがって、それらの魚種の生態と海ワシ類の摂餌との関係について本稿でより踏み込んだ考察はできない。表 4 で挙げた魚種はどれもアムール川中下流域全域に生息する魚類であり、どれも海ワシ類の餌として利用される可能性があると考えられる。

次に、ロシアから北海道東部にかけてオホーツク海全域を含む海ワシ類の行動圏において主要な餌となる可能性が高い魚類について検討する。海ワシ類の主要な餌は水鳥類や魚類、小型哺乳類であり、中でも魚類は幼鳥期から成鳥までの重要な餌資源となっている。海ワシ類はその生活史において繁殖地と越冬地間を移動する渡り行動をとるため、オホーツク海を中心とした海域とその流入河川流域が餌となる魚類の生息場所となる。

海ワシ類の摂餌行動は、主に水域に接続する陸岸または流水などの固定場所から水面を観察し、遊泳する魚類を視認して捕獲するもので、同じ猛禽類であるミサゴのように水面上空でホバリングし、捕獲するために水中に潜水するような行動は希である。魚類を捕獲可能な水深は海ワシ類の足部が浸かる約 20 cm 程度と考えられるので、水面近くを遊泳した魚類が狙われて摂餌されるのが一般的である。したがって、主要な餌魚種は水面に接する岸边から狙いやすい浅い水域に多量に生息分布し、しばしば水面近くを遊泳するもので、なおかつ、海ワシ類が視認可能で足

指でしっかり掴むことのできる、ある程度の体サイズに達するもの、という条件が考えられる。

以上の海ワシ類の摂餌行動特性を前提として、これまでの調査結果に基づいて推定したのが表5の主要な餌魚種である。海域ではスケトウダラをはじめ6種類、陸水域ではコウライギギをはじめとする5種類、そして海と陸に共通して重要なサケマス類に代表される回遊性の餌魚種が3種類の計14種類である。ここに示したのは主要種であり、これ以外にも多様な餌魚種が摂餌されているが、本稿では以下でこれら選定した主要種について考察する。

表7-3)-4 アムール川水系中下流部で海ワシ類の餌となる可能性の高い魚類とその生態型

学名	英名	和名(通称)	体長 (cm)		主な生息場所	生態型
			平均	最大		
<i>Oncorhynchus keta</i>	Chum salmon	サケ	58	100	河川・回遊性	無脊椎動物・魚食性
<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	Pink salmon	カラフトマス	50.5	76	河川・回遊性	無脊椎動物・魚食性
<i>Esox reichertii</i>	Amur pike	アムールバイク	55	115	底生性	魚食性
<i>Tachysurus fihivhaco</i>	Yellow catfish	コウライギギ	34.5	37	底生性	無脊椎動物食性
<i>Silurus asotus</i>	Amur catfish	ナマス	37	130	底生性	魚食性
<i>Silurus soldatovi</i>	Soldatov's catfish	(ナマス)	400	400	底生性・非回遊	魚食性
<i>Carassius sp.</i>	Prussian carp	(フナ)	46.6	20	底生遊泳性	無脊椎動物・テトリタス食性
<i>Cyprinus rubrofuscus</i>	Amur carp	(コイ)	28	28	底生遊泳性	無脊椎動物・テトリタス食性
<i>Leuciscus waleckii</i>	Amur ide	(ウグイ)	32.5	37	底生遊泳性・河川緩流域	水生・陸生昆虫
<i>Huso dauricus</i>	Kahuga	タウリアチョウサメ	560	560	底生・回遊性	無脊椎動物・魚食性
<i>Acipenser schrenckii</i>	Amur sturgeon	アムールチョウサメ	300	300	底生・回遊性	無脊椎動物食性
<i>Coregonus ussuriensis</i>	Amur whitefish	ウスリースシロマス	60	60	底生遊泳性	無脊椎動物・魚食性
<i>Brachymystax lenok</i>	Lenok	レンョク	55	70	底生遊泳・回遊性	無脊椎動物・魚食性
<i>Pseudaspius leptocephalus</i>	Redfin		42	68	底生遊泳性	魚食性
<i>Hucho taimen</i>	Taimen	アムールイトウ	200	200	底生遊泳性	魚食性
<i>Percottus glenii</i>	Chinese sleeper	マンシュウドンコ	25	25	底生性・静水域	無脊椎動物・魚食性
<i>Chanodichthys erythropterus</i>	Predatory carp. Skygazer	カワヒラ	47	102	底生遊泳性	無脊椎動物・魚食性
<i>Chanodichthys mongolicus</i>	Mongolian redfin	モウコカワヒラ	100	100	底生遊泳性・緩流域	無脊椎動物・魚食性
<i>Culter alburnus</i>	Topmouth Culter		28	92.8	底生遊泳性	無脊椎動物・魚食性
<i>Hemibarbus labeo</i>	Barbel steed	(ニコイ)	33	62	底生遊泳性	雑食・底生無脊椎動物食性
<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	Bighead carp	コクレン	60	146	底生遊泳性	プランクトン食性
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Silver carp	ハクレン	18	120	底生遊泳性	プランクトン食性
<i>Elopichthys bambusa</i>	Yellowcheek	カンユイ	200	200	底生遊泳性	魚食性
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	Grass carp	ソウギョ	150	150	底生遊泳性・静水域	植物食性
<i>Mylopharyngodon piceus</i>	Black carp	アオウオ	180	180	底生性	無脊椎動物食性
<i>Plagiognathops microlepis</i>	Smallscale yellowfin		67.5	70	底生遊泳性・河川性	
<i>Xenocypris macrolepis</i>	Yellowfin		10	34.6	底生遊泳性	
<i>Lota lota</i>	Burbot	カワメンタイ	40	152	底生性	無脊椎動物・魚食性
<i>Sander lucioperca</i>	Pike-perch	バイクハパーチ	50	100	漂泳性	無脊椎動物・魚食性

(a) 海域重要種

海域の主要餌魚種の特徴として挙げられるのは、冬季から初春に産卵のため岸寄りに移動する種、低温耐性のあるタラ科魚種であり、その特徴は海ワシ類にこれらが摂餌されるのが主に冬季であることと合致している。それ以外の魚種もその生活史の中で必ず海岸と深場との移動を伴うもので、海ワシ類の摂餌対象となる機会が多いと考えられる。カレイ類は海底に生息する底生性であるが、移動のため遊泳する際には魚体が一般的な魚類よりも水面上から視認しやすいと思われ、遊泳個体数が少なくても捕獲されやすい可能性が考えられる。

海域主要餌魚種の主な生息水深を基に重要な水域を示したのが図 7-3)-1 である。それらの魚種全てに共通する最も重要な生息水深帯はほぼ大陸棚斜面上水深約 200 m までの範囲であり、オホーツク海を中心部分を除く広い面積を占めている。海域主要餌魚種の多くはこの生息範囲において、地域的な回遊範囲の中で生活史をおくる地域個体群（系群）を構成していることが指摘されている。スケトウダラはオホーツク海の縁辺に沿っていくつかの主要な産卵場があり、その産卵場と索餌・成長水域間を移動回遊する地域個体群（系群）が存在する。その中で最大の地域個体群（オホーツク海北部系群）はカムチャッカ半島西側に分布中心がある。また、ニシンも同様にオホーツク海北部とサハリン島から北海道にかけて複数の系群が存在し、それぞれの系群には産卵回遊する海岸域がある。この様に海域主要餌魚種は図 2 に示したオホーツク海沿岸を生息場とし、海ワシ類との主な接点はそれらの魚種の季節的な産卵や索餌回遊行動の時期に合致していると考えられる。

表 7-3)-5 に示した海域重要種のうち、コマイ、ニシン、スケトウダラの主な産卵場を図 3 に示す。これら生息個体数も多い 3 魚種の産卵期は 1 月から 6 月にかけてで、コマイ、ニシンは海岸部で、スケトウダラは水深 400 m 以浅の沿岸部を産卵場としている。これら 3 魚種の産卵期は、オホーツク海が流氷に覆われる時期と重なる。流氷は海面に海ワシ類の足場を作ることになるため、産卵場に集群するスケトウダラなどを開放海面で狙いやすくなると考えられる。また、ニシンの産卵は流氷が少なくなる初春にかけてであるが、その産卵場はごく岸近くであり、集まったニシンを捕獲しやすいと思われる。

表 5 に示した魚種以外にオホーツク海で資源量が多く産卵回遊する魚種としては、カラフトシシャモ *Mallotus villosus* (Capelin) やキュウリウオ *Osmerus mordax dentex* (Pacific rainbow smelt) があげられる。カラフトシシャモは平均体長約 15 cm、最大体長 20 cm で、カムチャッカ半島西側やサハリン島北西部が主な産卵場になっており、産卵期である 4 月から 6 月にかけて海岸の砂礫底に集まって産卵する。そのためこの時期の海岸で捕獲しやすい魚種の一つに挙げられる。また、キュウリウオは平均体長約 15 cm、最大体長 34 cm で、5 月から 6 月の産卵期には内湾から河川へ遡上して産卵するため、集群した個体を狙いやすいと思われる。

以上のように、海域においては春から秋にかけては岸近くに生息する多様な魚類が、秋から冬季を経て春に向かう時期には産卵のために集群する魚種が海ワシ類の重要な餌になっていると考えられる。

(b) 陸水域重要種

陸水域は主たる繁殖地であるアムール川流域と、越冬地である北海道オホーツク海側河川流域があげられる。アムール川流域はコイ目魚類を中心に約 120 種以上の多様な淡水性・汽水性・回遊性の魚類が生息している。本研究では繁殖地であるアムグン川水系のチュクチャギル湖湖岸域から採集した残餌分析、ならびにロシア現地研究機関の魚類研究者からの聞き取りに基づき、5 種類を主要魚種として選定した。

これらの魚種に共通することは、①アムール川中下流域の河川・湖沼など広い範囲に生息すること、②ウグイ類を除き、表中層を活発に遊泳し続けるタイプではないこと、③産卵期が春季であること、があげられる。これらの特徴は、繁殖期に営巣して幼鳥を育てるために、給餌する親鳥が捕獲しやすい可能性に合致している。残餌分析で最も多かったコウライギギは、雌雄がつかいで岸近くで産卵し、雌よりやや大型の雄が受精卵と稚仔を保護する性質がある。残餌分析で見つかったコウライギギの頭部から推定した体長のモードは約 20 cm で、これは成熟した雄の一般的な体長に一致する。以上のことから、繁殖期の海ワシ類にとって好適な餌となっているものと考えられる。

これら陸水域重要種の生息域を図 2 に示した。その範囲はアムール川の中下流域、サハリン島の河川流域、北海道オホーツク海側の河川流域である。北海道オホーツク海側河川流域は越冬期の摂餌水域であるが、湖水面や河川が氷結する前と解氷後には、サケ科魚類やウグイ類などのコイ科魚類などが摂餌されている。

(c) 河川流域と海域に共通する重要種

オホーツク海とその流入河川流域には数多くの回遊魚が生息しており、それらは本地域の魚類群集の重要な構成要素であるが、中でも海ワシ類にとって重要なのはサケマス類である。シロザケ・カラフトマスにとってオホーツク海は成長のための重要な水域であり、流入河川は産卵場所として重要である。

アムール川水系におけるサケマス類の主要な産卵域（遡上範囲）を図 7-3)-2 に示す。その範囲はアムール川の下流域が中心であり、本流下流部と支川のアムグン川水系が主な遡上産卵域となっている。晩夏から初秋にかけて遡上してくるサケマス類は、渡り行動前の海ワシ類にとって重要な餌資源であることから、サケマス類の遡上範囲は、(b)の陸水域重要種の生息範囲に加えて重要度の高い地理的範囲であると言えるだろう。

サケマス類の遡上河川はオホーツク海全域に及ぶが、北海道オホーツク海側の流入河川でも、海ワシ類の渡り時期には重要な餌資源になると考えられる。

(3) 海ワシ類の主要餌魚種から見た海ワシ類保全上の重要な地理的範囲に関する考察

本分担課題では、海ワシ類の潜在的な餌魚種を選定することで、海ワシ類にとって重要な摂餌可能域を推定することが目的の一つである。図 7-3)-2 に示した主要餌種の重要な生息域から分かることは、オホーツク海沿岸の水深約 200 m の大陸棚縁辺から流入河川中下流域を含む範囲が“餌資源保全域”として重要な地理的範囲であるといえることである。その範囲は海ワシ類の渡りルートを含み、生活史を完結するために欠かすことができない空間範囲であるといえよう。す

なわち、海ワシ類の保全には河川流域から沿岸域に至る生態的連環を含めた広い地理的生息空間が必要であることを示しており、海ワシ類はオホーツク海とその流入河川流域の生態系の状態を指標する極めて重要な特性を持っていることが改めて理解できる。

一方で、表 7-3)-5 からわかるように、海ワシ類にとって主要な餌魚種は人間にとっても重要な漁獲対象種であり、漁業生産上様々な人為的な関与がなされている魚種が多い。このことは、海ワシ類の利用可能餌資源の質と量に人間が大きな影響を及ぼすことを示しており、その点を考慮した保全策の検討が重要であろう。

さらに重要な点は、表 7-3)-5 で示した魚種そのものの保全生態学的な把握に基づく対応である。オホーツク海全体に及ぶ詳細なモニタリングはできないが、選定したモニタリングスポットでの魚類の生態モニタリング調査は必要である。また、生態系の指標種として扱われる海ワシ類だけでなく、海ワシ類に連なる食物連鎖が成り立つ基盤の状態把握と対応も海ワシ類の保全のために重要である。なぜならば、海ワシ類の個体数変化に関するデータのみでは、餌魚種やその餌となる水生無脊椎動物の状態変化の実態はわからず、結果として海ワシ類保全のための実効性ある対策が立たないからである。

魚類の保全上は、図 7-3)-2 で示した主要魚種の生息範囲は様々な人間活動の影響を強く大きく受ける範囲でもあるため、多くの課題を抱えている。現在主要な餌種となっている魚種が今後も主要であるかどうかは、これらの魚種の生息域の環境変化とそれに及ぼす人間活動の関与次第である。以上の点を考慮した、海ワシ類にとっての保全上重要な地理的空間範囲の選定と、新たな知見に基づく継続的な更新が保全対策上必要であると考えられる。

表7-3)-5 環境DNA分析・採集調査・既住研究から推定される海フシ類の主要餌魚種

和名/一般名	学名	体長(cm)	分布水深・水温帯	生態・食性	産卵期・場所
(a) オホーツク海域重要種					
スケトウダラ	<i>Theragra chalcogramma</i>	60	100~400 m, 主に200 m	中底層回遊・群性	3~5月 沿岸域
コマイ	<i>Eleginus gracilis</i>	40	~150 m 耐凍性	底層底生・群性 浮遊性甲殻類・ベントス・魚類	1~3月 岸近くの低水温域
ニシン	<i>Clupea pallasii</i>	30	~200 m	表層・群性 産卵回遊	3~6月 岸近くの海藻・海草群落
ホッケ	<i>Pleurogrammus aozonus</i>	50	~100 m	中底層・群性	9~12月 沿岸岩礁帯
メバル類*1	<i>Sebastes</i> spp.	20~60	~100 m	中底層・群性	5~6月 岸近く
カレイ類*2	<i>Pleuronectidae</i> spp.	40	~100 m	底生	4~5月 岸近く砂礫細砂底
(b) アムール川流域・陸水域重要種					
コウライギギ	<i>Pseudobagrus fulvidraco</i>	20~30	河川・湖沼	中底層・群性	春季 雄が卵稚子を保護
アムールナマズ	<i>Silurus</i> spp.	60	河川・湖沼・緩い流れのあるところ	中底層 魚類・ベントス食	初夏 水深0.6~0.8 mの水草帯
アムールバイク	<i>Esox reichertii</i>	50~100	河川・湖沼・緩い流れのあるところ	底層 魚食性	春季
フナ類	<i>Carassius</i> sp.	30	河川・湖沼	中底層・群性	春季
ウグイ類*3	<i>Leuciscinae</i> spp.	32.5	河川・湖沼・緩い流れのあるところ	中底層・群性	春季
(c) 河川流域と海域に共通する重要種(回遊種)					
サケ	<i>Oncorhynchus keta</i>	60~70	河川上中流部~北太平洋 ~250 m	表層・群性	秋季(河川上中流域)
カラフトマス	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	45~60	河川上中流部~北太平洋 ~250 m	表層・群性	秋季(河川上中流域)
ウグイ(ジュウサンウグイ)	<i>Tribolodon brandtii brandtii</i>	30~60	河川中流部~浅海域	中底層・群性	春季(河川中流部)

*1 エゾメバル、クロンイについて記載

*2 クロガシラガレイについて記載

*3 Amur ide (*Leuciscus waleckii*)について記載



図 7-3)-1 海ワシ類の主要餌魚種の重要な地理的生息範囲の概略図

海域 — * 主要種の重要生息水域 — * 主要種の生息水域
 陸水 □ 情報収集できた主要種の重要
 重要河川 — アムール川水系におけるサケマス類の主な



図 7-3)-2 海ワシ類の主要餌魚種の主な産卵場 (1~4 月)

*表 7-3)-5 参照

4) 海洋の物理環境に基づくオホーツク海域の一次生産量の推定

(1) 現地観測データによる一次生産力推定

東樺太海流の影響の強い冬季である3月19-22日に実施した一次生産力測定、溶存酸素濃度と光量の動態を図7-4)-1、図7-4)-2に示す。19、20日の純光合成速度としての酸素生成速度は19日が0.287 mgO₂/L/day、20日が0.335 mgO₂/L/dayであり、総光合成量としての酸素生成速度は19日が0.413 mgO₂/L/day、20日が0.491 mgO₂/L/dayであった(表7-1)-1)。この値を炭素量に換算すると、19日の純炭素生成量は0.108mgC/L/day、総炭素生成量は0.155mgC/L/dayとなり、20日の純炭素生成量は0.126mgC/L/day、総炭素生成量は0.184mgC/L/dayとなった。一方、3月21、22日の純光合成速度としての酸素生成速度は21日が0.854 mgO₂/L/day、22日が0.669 mgC/L/day、総光合成量としての酸素生成速度は21日が1.027 mgO₂/L/day、22日が0.833 mgO₂/L/dayであった。この値を炭素量に換算すると、21日の純炭素生成量は0.320mgC/L/day、総炭素生成量は0.385mgC/L/dayとなり、22日の純炭素生成量は0.251mgC/L/day、総炭素生成量は0.312mgC/L/dayとなった。3/19-22の期間の1日の純炭素生成量で比較すると、19日と21日では3倍近い差がみられた。光環境として1日の積算光量を比較すると、水中、陸上とも3月21日がもっとも高い値を示し、20日がもっとも低い値を示しており(表7-1)-1)、これら一次生産力の違いは光量に依存していたことが推察される。ただし、3/19では、3/20に比べ積算光量は多いにもかかわらず、光合成量は低い値となっていた。要因として3/19は実験開始直後であり、採水、装置セット等の影響があった可能性が推察される。

3月29-31日に実施した一次生産力測定、溶存酸素濃度と光量の動態を図7-4)-3、図7-4)-4に示す。純光合成速度としての酸素生成速度は29日が0.325 mgO₂/L/day、30日が0.416 mgO₂/L/day、31日が0.579 mgO₂/L/dayであり、総光合成量としての酸素生成速度は29日が0.437 mgO₂/L/day、30日が0.515 mgO₂/L/day、31日が0.677 mgO₂/L/dayであった(表7-1)-1)。この値を炭素量に換算すると、29日の純炭素生成量は0.122mgC/L/day、総炭素生成量は0.164mgC/L/dayとなり、30日の純炭素生成量は0.156mgC/L/day、総炭素生成量は0.193mgC/L/day、31日の純炭素生成量は0.217 mgO₂/L/day、総炭素生成量は0.254mgC/L/dayとなった。3/29-31の期間の1日の純炭素生成量で比較すると、日にちが進むごとに増加する傾向がみられた。光環境として1日の積算光量を比較すると、陸上光量は3日とも大きな違いが見られないが、水中光量は31日がもっとも低い値を示し、30日の約半分の積算光量であった(表7-1)-1)。

宗谷暖流の勢力が強い夏季、7月31日と8月1日に実施した一次生産力測定、溶存酸素濃度と光量の動態を図7-4)-5、図7-4)-6に示す。純光合成速度としての酸素生成速度は7月31日が0.286 mgO₂/L/day、8月1日が0.317 mgO₂/L/dayであり、総光合成量としての酸素生成速度は7月31日が0.516 mgO₂/L/day、8月1日が0.513mgO₂/L/dayであった(表7-1)-1)。この値を炭素量に換算すると、7月31日の純炭素生成量は0.107mgC/L/day、総炭素生成量は0.194mgC/L/dayとなり、8月1日の純炭素生成量は0.119mgC/L/day、総炭素生成量は0.192mgC/L/dayとなった。両日の1日の純炭素生成量はほぼ同程度であった(表7-1)-1)。光環

境として1日の積算光量を比較すると、水中、陸上ともに積算光量は7月31日の方が高い値であった。7月31日は実験開始直後であることが影響している可能性が推察される。

8月下旬の8月27日と28日に実施した一次生産力測定、溶存酸素濃度と光量の動態を図7-4)-7、図7-4)-8に示す。一次生産力測定結果では、純光合成速度としての酸素生成速度は8月27日が0.627 mgO₂/L/day、8月28日が0.475 mgO₂/L/dayであり、総光合成量としての酸素生成速度は8月27日が0.803 mgO₂/L/day、8月28日が0.625 mgO₂/L/dayであった (Table 7-1) -1)。この値を炭素量に換算すると、8月27日の純炭素生成量は0.235 mgC/L/day、総炭素生成量は0.301 mgC/L/dayとなり、8月28日の純炭素生成量は0.178 mgC/L/day、総炭素生成量は0.234 mgC/L/dayとなった。両日の1日の純炭素生成量は8月27日の方が高い傾向を示した (表7-1) -1)。光環境として1日の積算光量を比較すると、水中、陸上ともに積算光量は8月27日の方が高い値であった。8月下旬は積算光量の多寡が1日の光合成量の結果として表われたと推察される。

東樺太海流の影響の強い冬季は、一次生産者である植物プランクトンの生物量の指標となるクロロフィル a 濃度は、宗谷暖流の影響が強い夏季にくらべて高い傾向がみられた。一方、光合成量は両季節で顕著な違いはみられなかったものの、もっとも高い値は3月21日にみられた。光合成量には、植物プランクトンの生物量、光量が大きく関わるものの、栄養塩濃度、光透過率等も影響をおよぼす。この点を考慮に入れる必要はあるものの、オホーツク海沿岸域では、海氷の影響のある冬季の一次生産量は、夏季に匹敵するか、それ以上の植物プランクトンによる水柱における生産性の高さを示す結果となった。今回の結果は水柱の植物プランクトンによる一次生産力を評価したものであるが、海氷期には海氷中に生息するアイスアルジーが存在する。アイスアルジーによる一次生産が行われていたとするならば、夏季よりも冬季で一次生産力は高くなることを示唆するものである。

海氷がオホーツク沿岸、能取湖湖口付近で確認された2021年2月3-15日に実施した一次生産力測定の結果を図7-4)-9、図7-4)-10、図7-4)-11、図7-4)-12に示す。

純光合成速度としての純酸素生成速度は、前半の2月3日から2月8日にかけては、0.14 mgO₂/L/day以下を示し、特に2月5日はプラスの生産は行われなかった。また、2月5日を除いた酸素生成速度は、2月3日は0.025 mgO₂/L/dayであったが、日を追うごとに増加傾向を示し、2月8日には0.140 mgO₂/L/dayとなった。一次生産力測定水深(4m)における光透過率は、2月5日は0.4%で、有効光量が到達していなかったといえる。2月5日の日中は、海氷に覆われていたことが推察される。この期間の他の日にちの光透過率は4.7-9.7%の値を示しており、有効光量が到達していたことが推察される。

後半の2月9日から2月14日にかけての純酸素生成速度は、9日は0.176 mgO₂/L/day、以降、増加傾向を示し、2月14日は0.562 mgO₂/L/dayとなった。この間の一次生産力測定水深の光透過率は4.5-10.9%で、有効光量が到達していた。

2020年3月と2021年2月の純酸素生成速度を比較すると、前者は0.025-0.562 mgO₂/L/day (平均0.495 mgO₂/L/day)であったのに対し、後者では0.287-0.854 mgO₂/L/day (平均0.197 mgO₂/L/day)であった。このときのそれぞれの光透過率は、前者では3.9-21.0% (平均

13.6%)、後者では0.4–10.9% (平均6.9%)と2020年3月が高い透過率を示した。また、一次生産力測定水深(4m)における日積算光量は、前者では4415.9–21312.6 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$ (平均10715.3 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$)、後者では140.2–3978.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$ (平均2413.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$)と到達した日積算光量の絶対値も2020年3月が高い値を示した。一方、単位光量当たりの酸素生成量(平均純酸素生産速度/平均日積算光量)は、2021年2月は2020年3月の約2倍高い値を示し、2月の植物プランクトンは低光量に適応していることが示唆される。

表7-4)-1 溶存酸素濃度の動態より算出した、能取湖湖口における冬季(2020年3月)と夏季(2020年7、8月)の一次生産力(酸素生成量 $\text{mgO}_2/\text{L}/\text{day}$ 、炭素生成量 $\text{mgC}/\text{L}/\text{day}$)、積算光量($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$)と採水時のクロロフィルa濃度($\mu\text{g}/\text{L}$)

水深4m		2020										
		3/19	3/20	3/21	3/22	3/29	3/30	3/31	7/31	8/1	8/27	8/28
純光合成量	酸素生成量 $\text{mgO}_2/\text{L}/\text{day}$	0.287	0.335	0.854	0.669	0.325	0.416	0.579	0.286	0.317	0.627	0.475
	炭素生成量 $\text{mgC}/\text{L}/\text{day}$	0.108	0.126	0.320	0.251	0.122	0.156	0.217	0.107	0.119	0.235	0.178
総光合成量	酸素生成量 $\text{mgO}_2/\text{L}/\text{day}$	0.413	0.491	1.027	0.833	0.437	0.515	0.677	0.516	0.513	0.803	0.625
	炭素生成量 $\text{mgC}/\text{L}/\text{day}$	0.155	0.184	0.385	0.312	0.164	0.194	0.254	0.194	0.192	0.301	0.234
採水時のクロロフィルa濃度 $\mu\text{g}/\text{L}$		2.28				2.71			0.64		1.75	
水中積算光量 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$		11276.5	5341.4	21312.6	16304.2	6997.4	9359.2	4415.9	23546.8	15971.3	16480.2	12037.7
陸上積算光量 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$		72255.6	25467.2	103286.6	85297.4	102763.1	115380.7	112858.6	132635.8	86848.3	103327.5	89318.7
透過率(水中積算光量/陸上積算光量)		15.6%	21.0%	20.6%	19.1%	6.8%	8.1%	3.9%	17.8%	18.4%	15.9%	13.5%

表7-4)-2 溶存酸素濃度の動態より算出した、能取湖湖口における2021年2月の一次生産力(酸素生成量 $\text{mgO}_2/\text{L}/\text{day}$ 、炭素生成量 $\text{mgC}/\text{L}/\text{day}$)と積算光量($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$)

水深4m		2021											
		2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14
純光合成量	酸素生成量 $\text{mgO}_2/\text{L}/\text{day}$	0.025	0.031	—	0.081	0.106	0.140	0.176	0.191	0.223	0.224	0.405	0.562
	炭素生成量 $\text{mgC}/\text{L}/\text{day}$	0.009	0.012	—	0.026	0.152	0.211	0.066	0.071	0.084	0.084	0.152	0.211
総光合成量	酸素生成量 $\text{mgO}_2/\text{L}/\text{day}$	0.070	0.059	—	0.129	0.147	0.184	0.218	0.238	0.283	0.272	0.468	0.648
	炭素生成量 $\text{mgC}/\text{L}/\text{day}$	0.026	0.022	—	0.009	0.175	0.243	0.082	0.089	0.106	0.102	0.175	0.243
水中積算光量 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$		1725.8	3422.2	140.2	1989.1	1448.0	2405.0	3429.9	2602.7	2349.6	2256.7	3214.6	3978.5
陸上積算光量 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{day}$		19253.6	35434.5	34419.4	32172.9	31057.6	41287.2	45983.2	30935.8	39879.9	50424.6	29488.6	37853.4
透過率(水中積算光量/陸上積算光量)		9.0%	9.7%	0.4%	6.2%	4.7%	5.8%	7.5%	8.4%	5.9%	4.5%	10.9%	10.5%

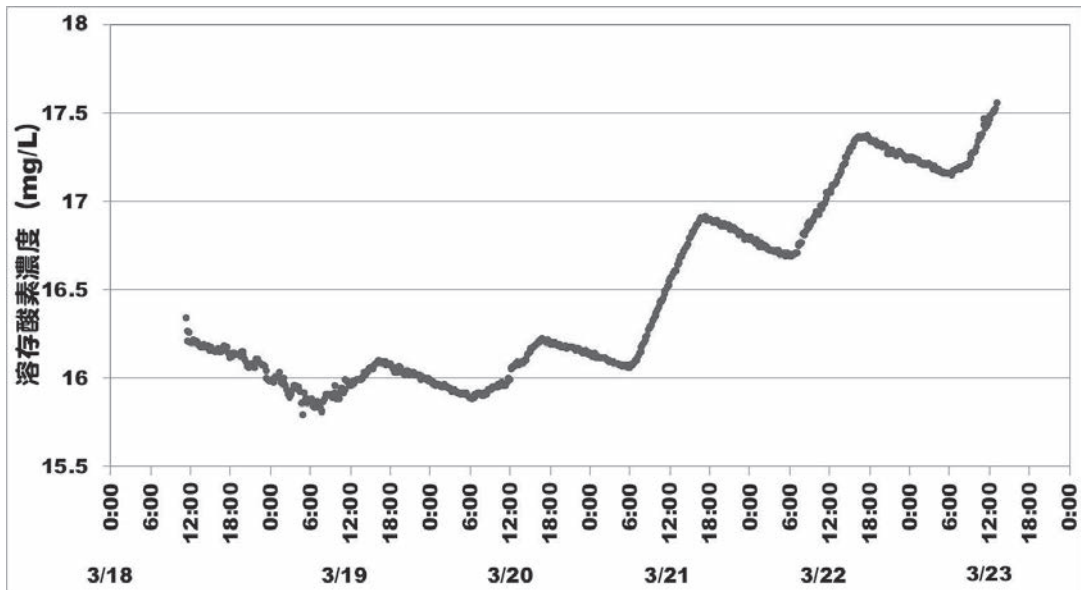


図 7-4)-1 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態 (2020 年 3 月 18-23 日)

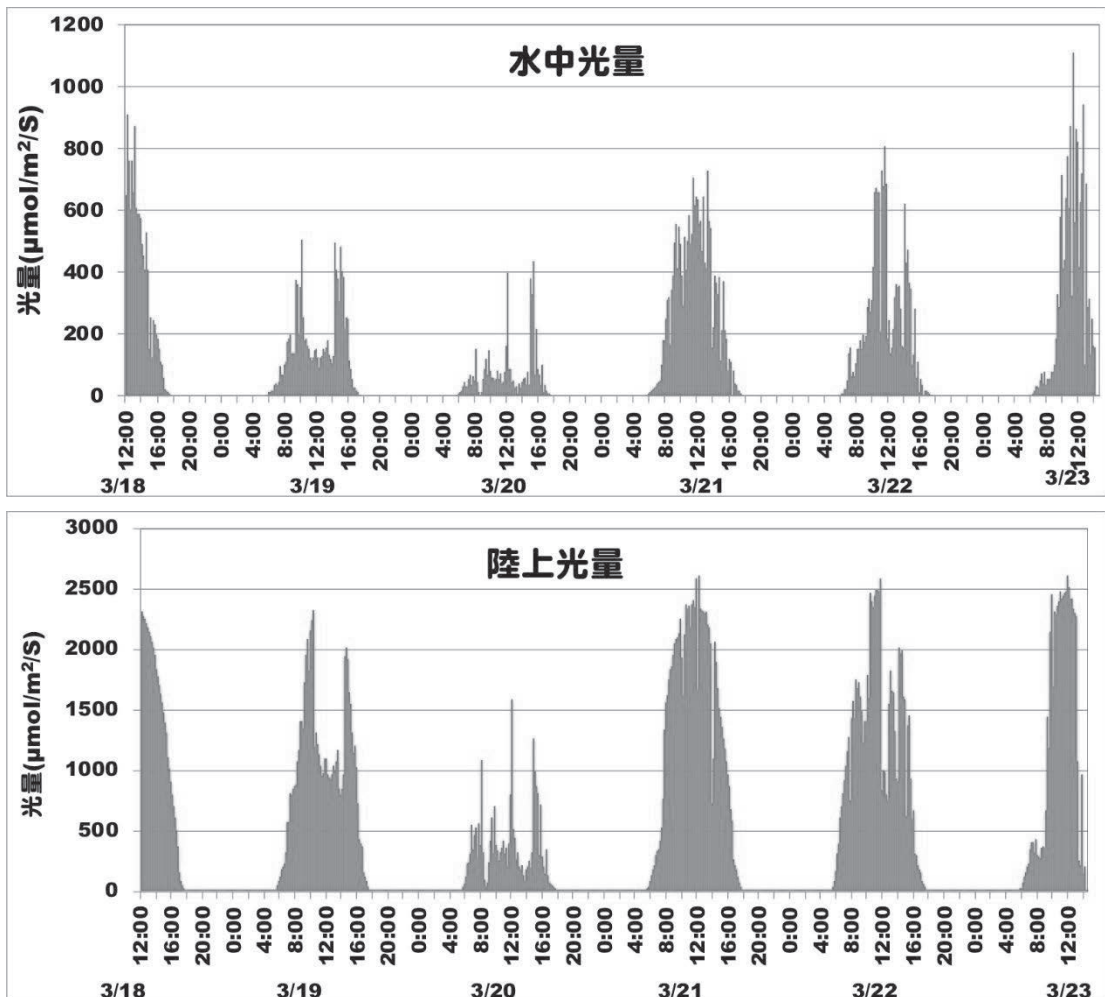


図 7-4)-2 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態 (2019 年 3 月 18-23 日)

上段：水中光量 下段：陸上光量

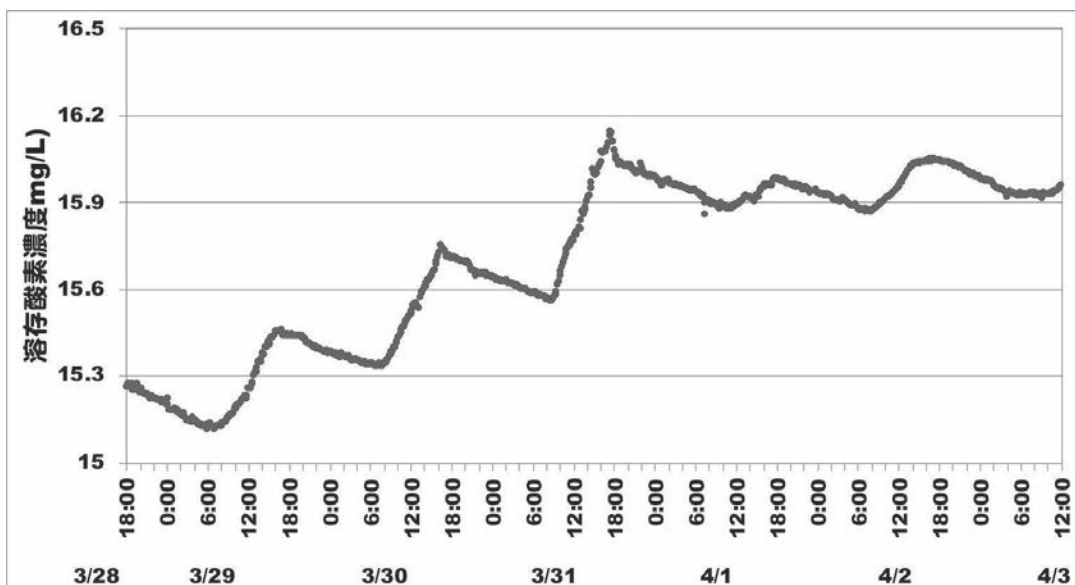


図 7-4)-3 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態 (2020 年 3 月 28 日-4 月 3 日)

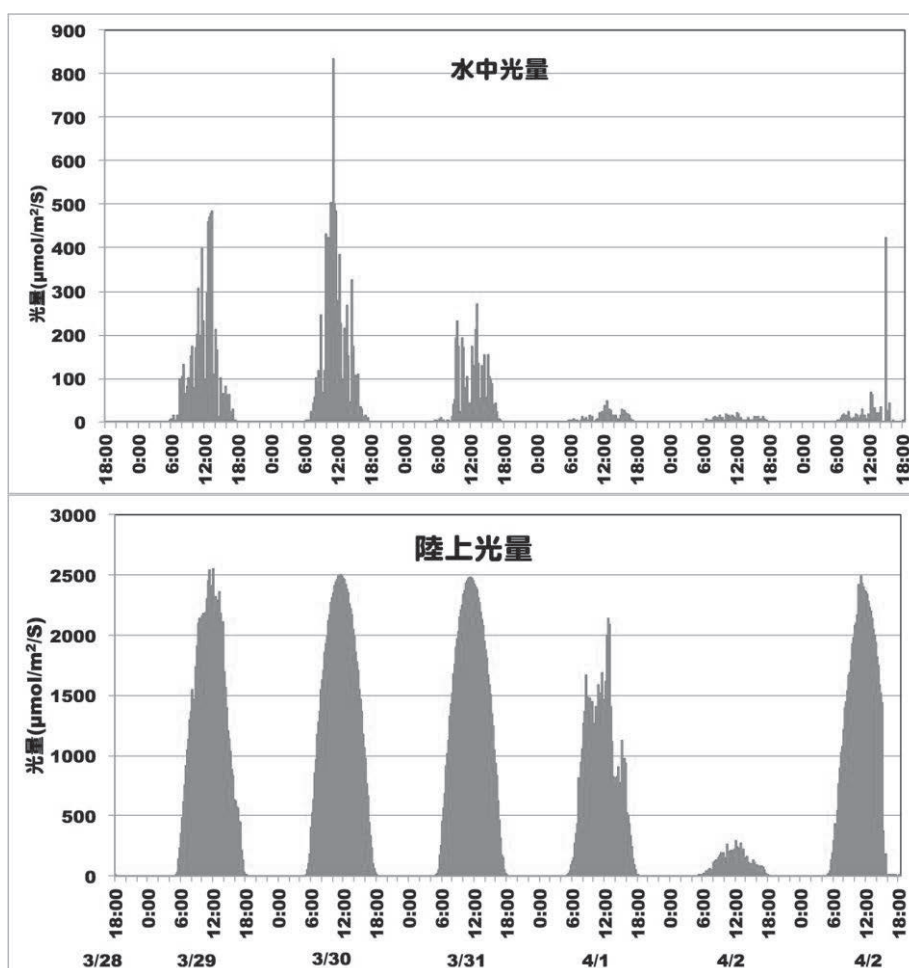


図 7-4)-4 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態 (2020 年 3 月 28-4 月 2 日)
 上段：水中光量 下段：陸上光量

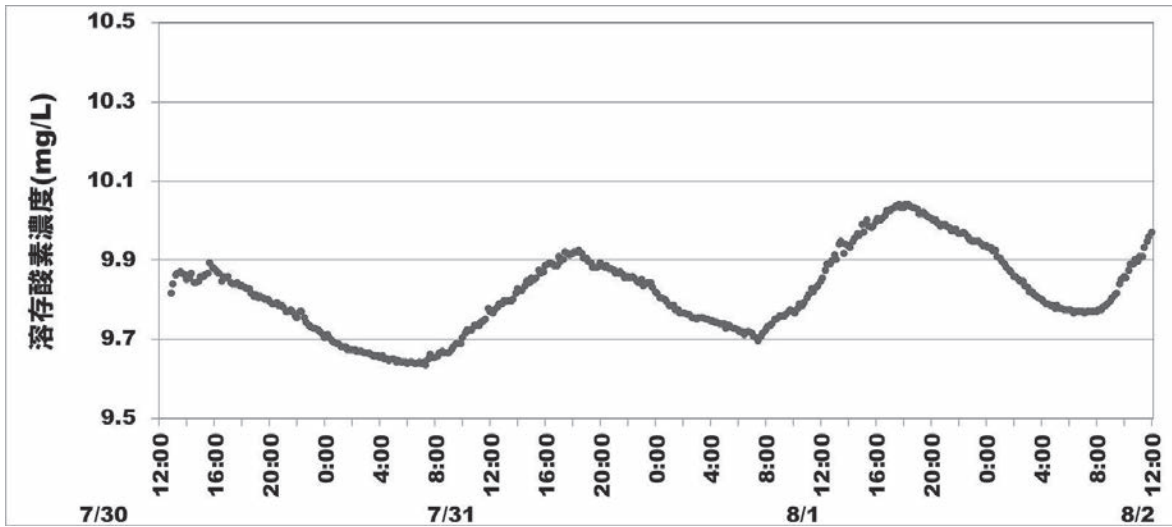


図 7-4)-5 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態 (2020年7月30日-8月2日)

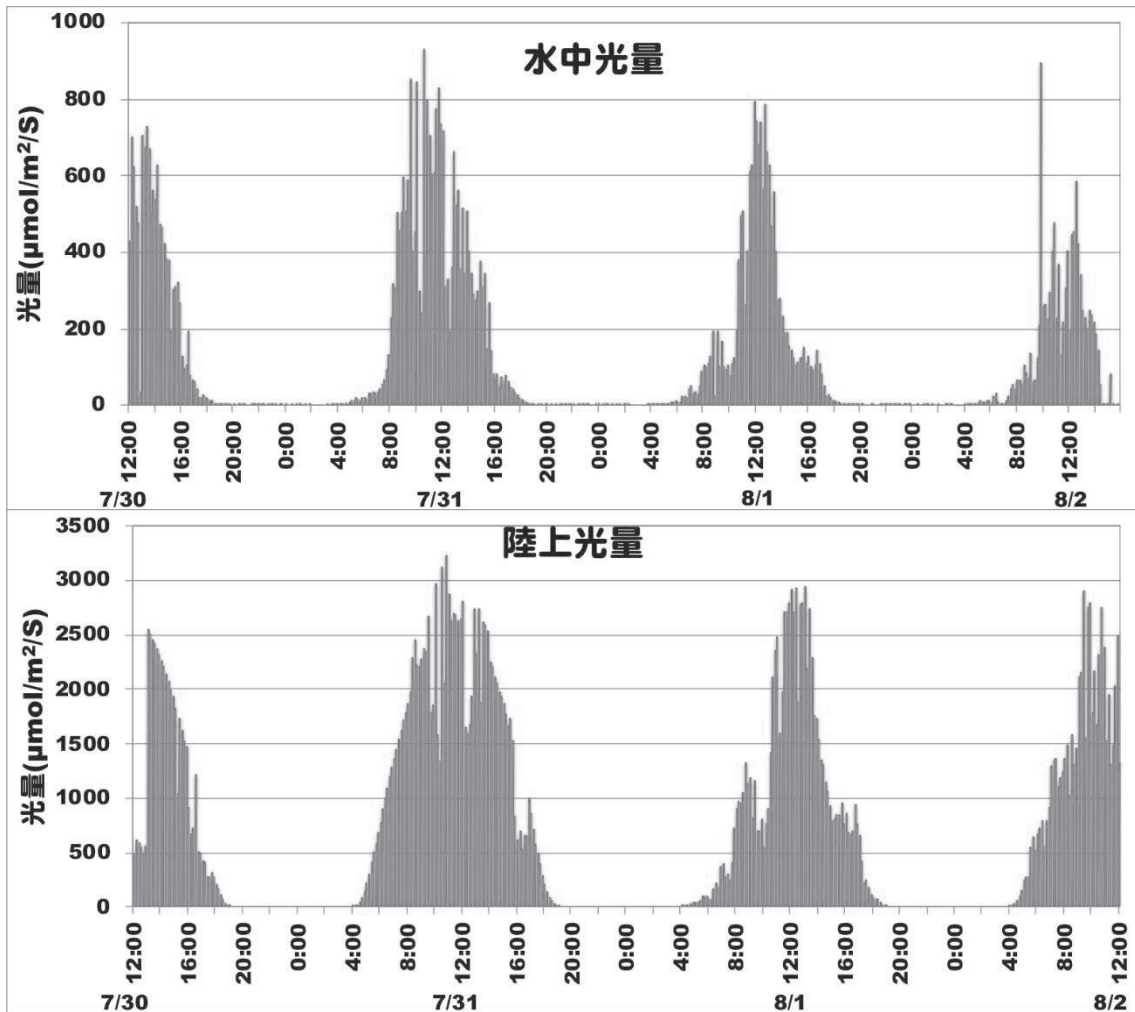


図 7-4)-6 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態 (2020年7月30日-8月2日)
 上段：水中光量 下段：陸上光量

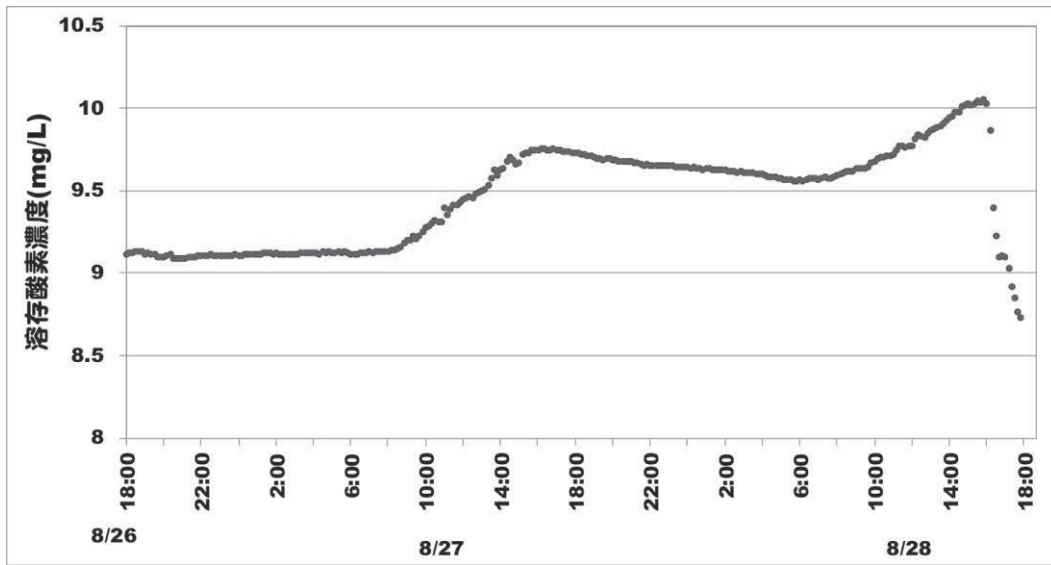


図 7-4)-7 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態 (2020 年 8 月 26-28 日)

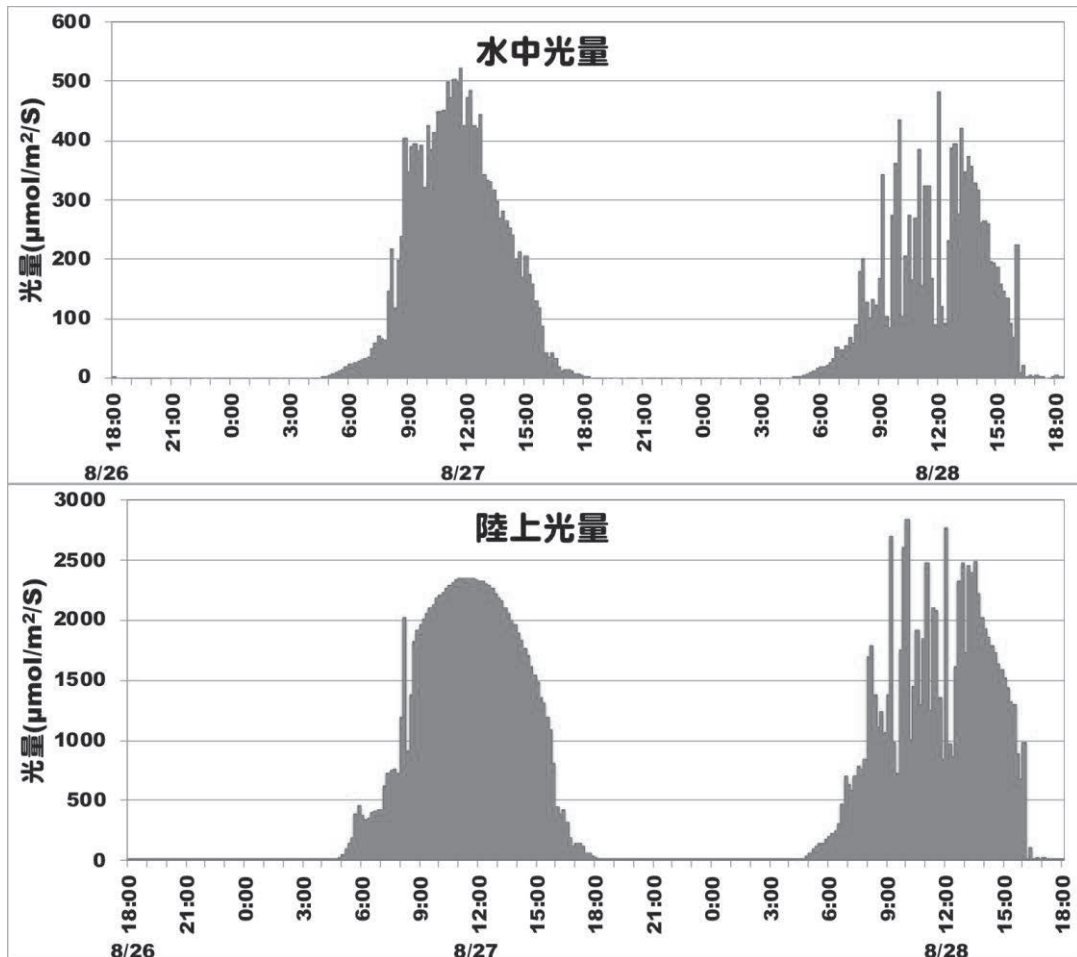


図 7-4)-8 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態 (2020 年 8 月 26-28 日)

上段：水中光量 下段：陸上光量

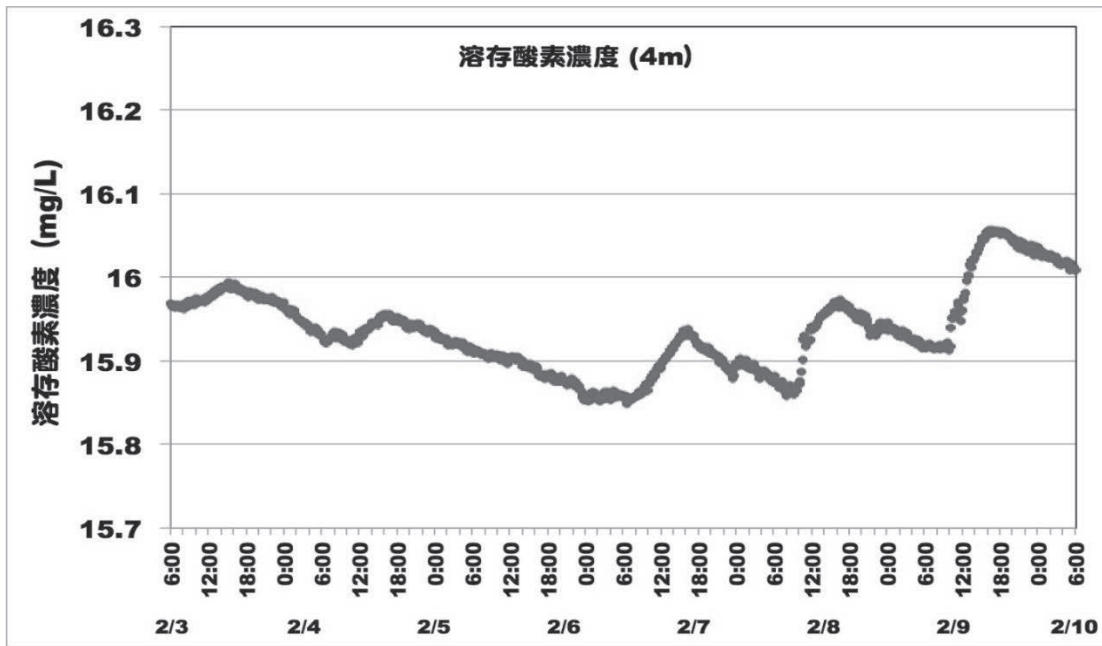


図 7-4)-9 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態 (2021 年 2 月 3-9 日)

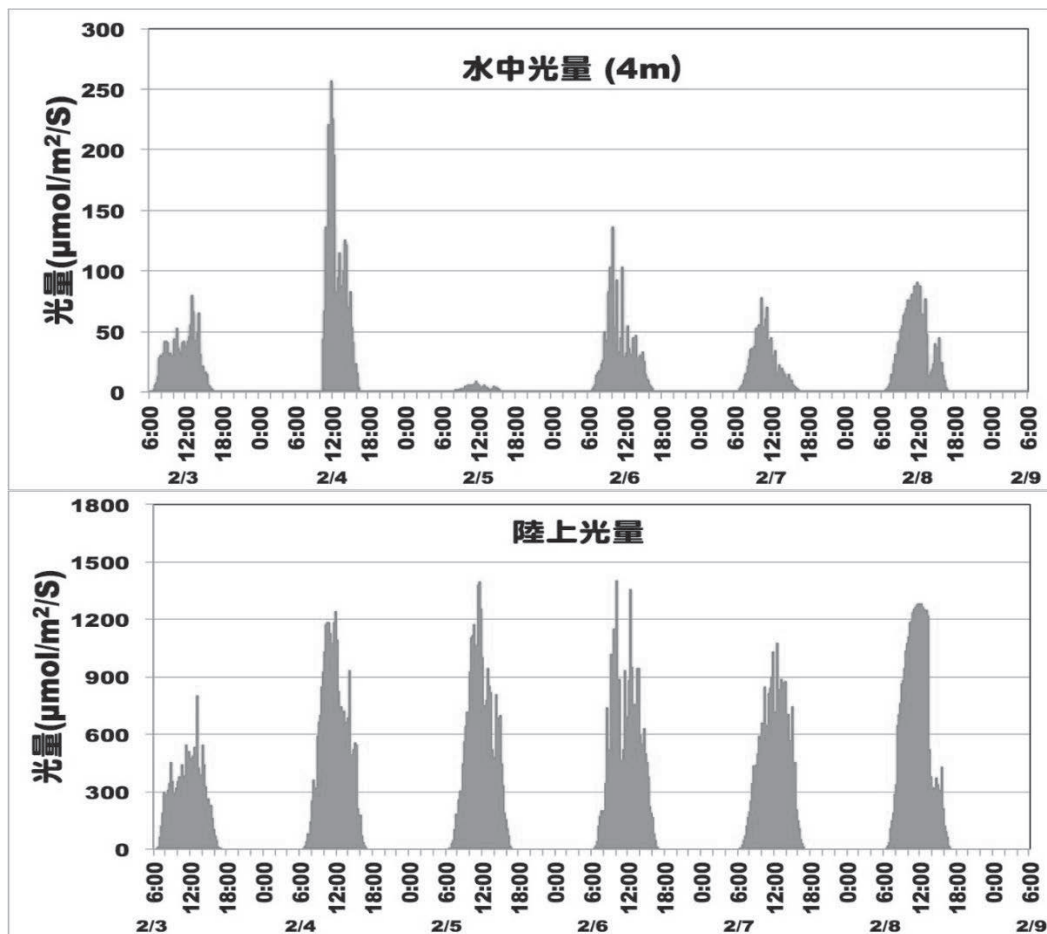


図 7-4)-10 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態 (2021 年 2 月 3-9 日)
 上段：水中光量 下段：陸上光量

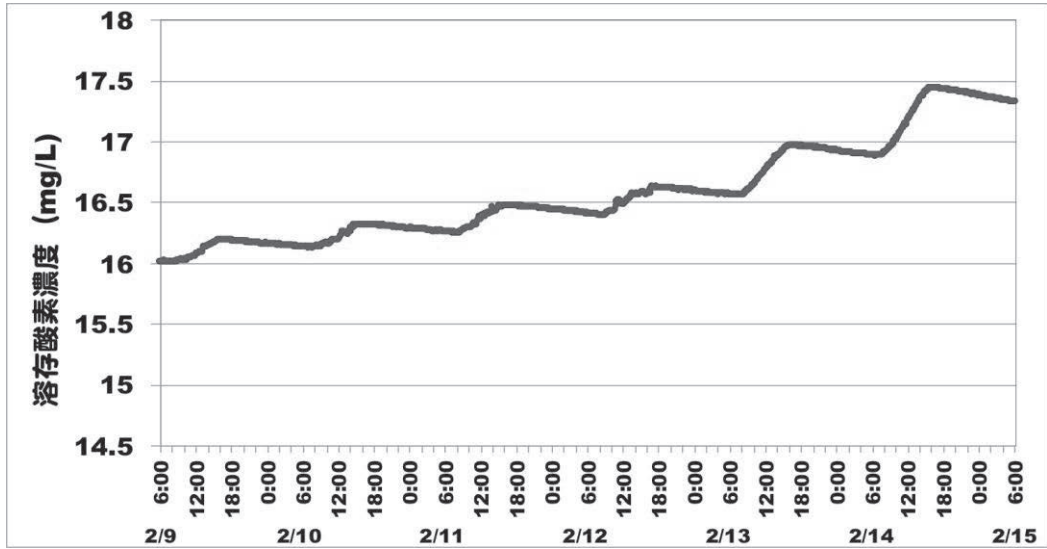


図 7-4)-11 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態 (2021 年 2 月 9-15 日)

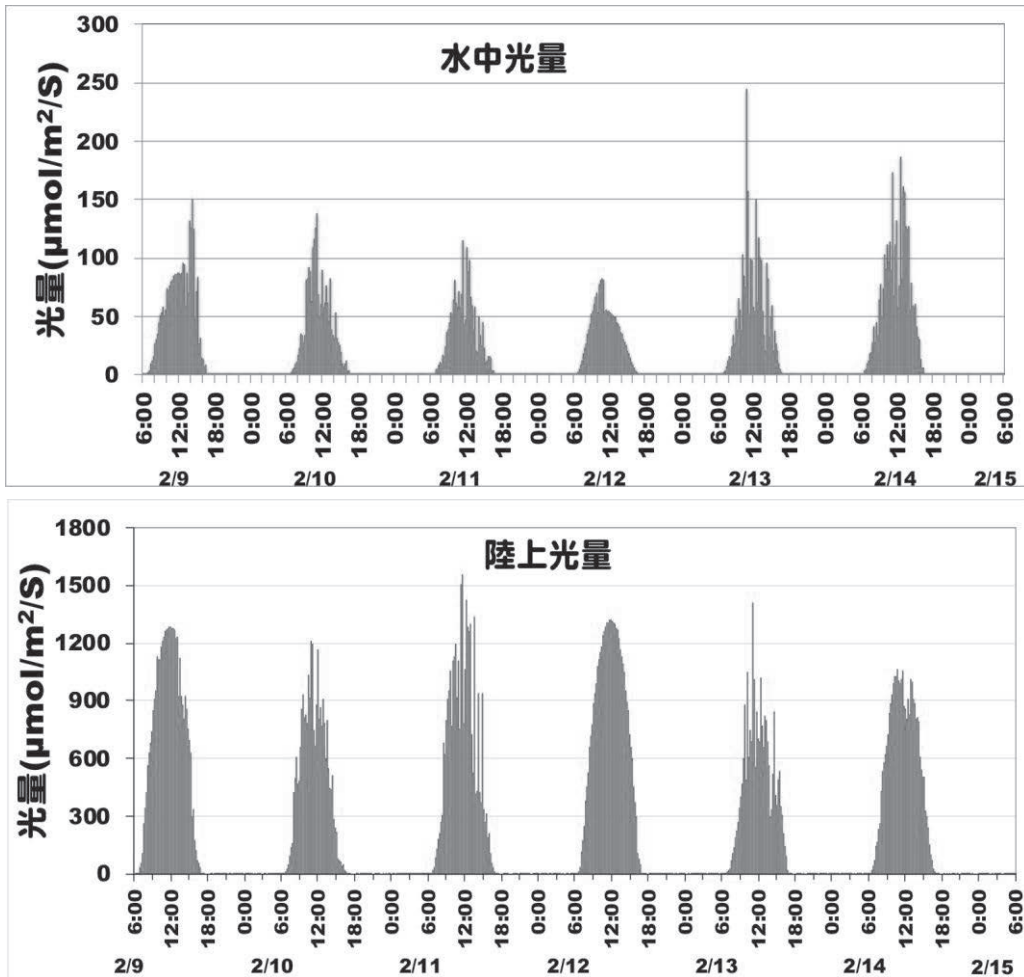


図 7-4)-12 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態 (2021 年 2 月 9-15 日)

上段：水中光量 下段：陸上光量

(2) 海域および湖沼のクロロフィル a 濃度の観測

JASMES から入手した表 7-4)-2 に示すクロロフィル a 濃度 ($\mu\text{g/L}$) の SGLI 準リアルタイムデータを使用した。高分解能・高頻度の SGLI センサを用いることにより、これまで得られることができなかった湖沼のような局所的な内水域のクロロフィル a 濃度と結氷状態を監視することが可能となった。JAXA によると、SGLI のクロロフィル a 濃度プロダクトの精度を検証した結果、0.1 から $3\mu\text{g/L}$ の濃度範囲では平均絶対パーセント誤差で 31.86% であり、目標精度として -50 ~ +100% と設定されている。

表 7-4)-3 本研究で使用した衛星センサ

センサ名	機関 衛星名	期間	種別	情報	空間 分解能
SGLI	JAXA GCOM-C	2020 年 3 月 ~12 月	可視・近赤外	クロロフィル a 濃度 結氷状態	250m

図 7-4)-9 に示した能取湖で 2020 年 3 月から 8 月にかけて実施された 4 回のクロロフィル a 濃度現地観測データと、SGLI で観測されたクロロフィル a 濃度の比較を行った。その結果を図 7-4)-10 に示す。現地で観測されたクロロフィル a 濃度と、衛星で観測された湖口の外側（オホーツク海）と湖口の内側（能取湖）のクロロフィル a 濃度の変動傾向には良い一致が見られた。図 7-4)-11 は現地観測と衛星観測のクロロフィル a 濃度の値を比較したものである。これらの結果から、衛星観測から得られたクロロフィル a 濃度は妥当な値を示していることが確認された。また、現地観測された能取湖の湖口は、上げ潮時には外海の海水と同じクロロフィル a 濃度を示していることがわかった。

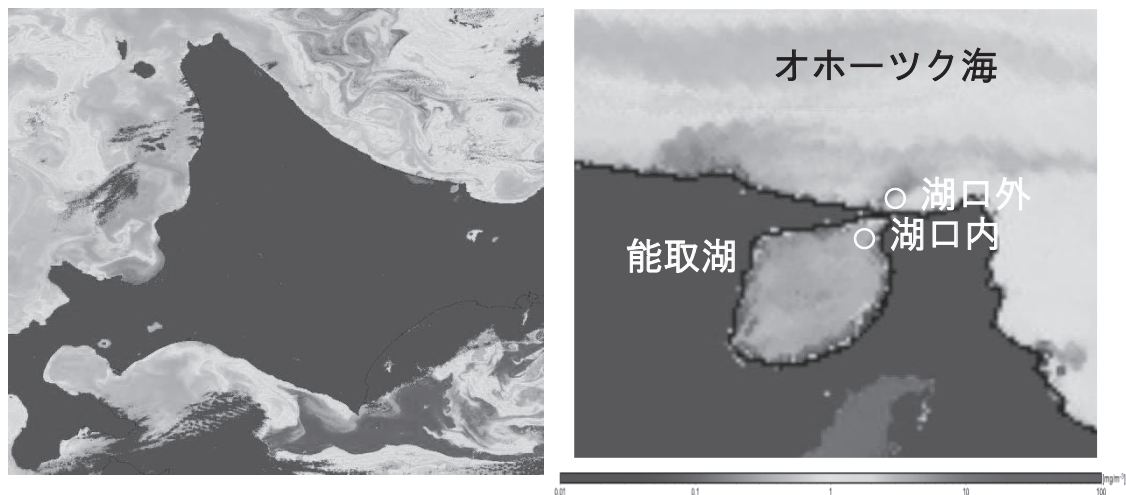


図 7-4)-13 SGLI で観測された能取湖のクロロフィル a 濃度 ($\mu\text{g/L}$) の例 (2020 年 4 月 13 日)
 (左) 北海道全体エリア, (右) 能取湖エリアを拡大した図。図中の○は衛星データをサンプリングした湖口内と湖口外の点。

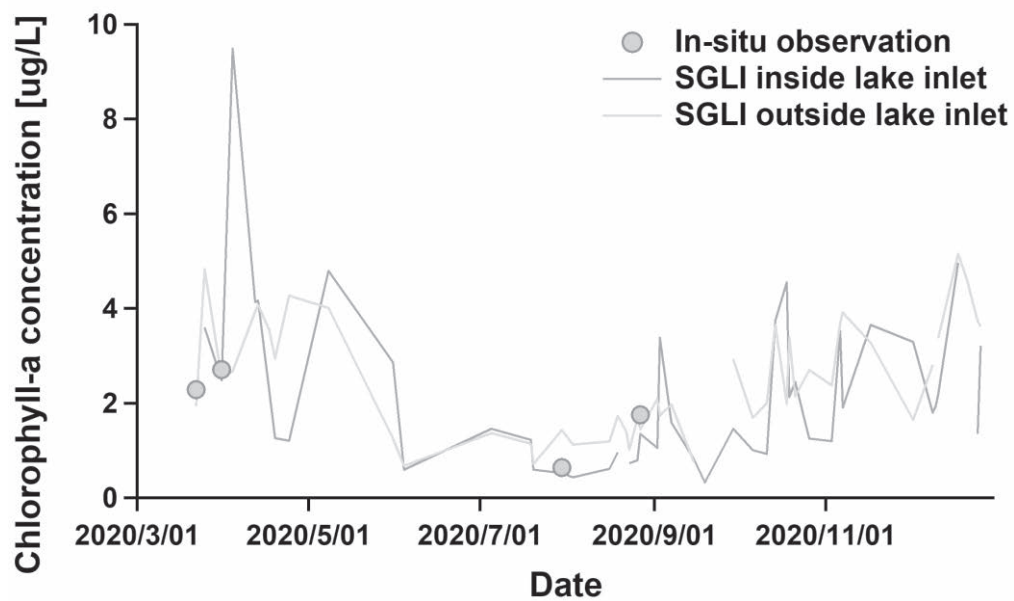


図 7-4)-14 SGLI と現地観測で測定された能取湖・湖口およびその周辺におけるクロロフィル a 濃度の季節変化 (2020 年 3 月 12 月)

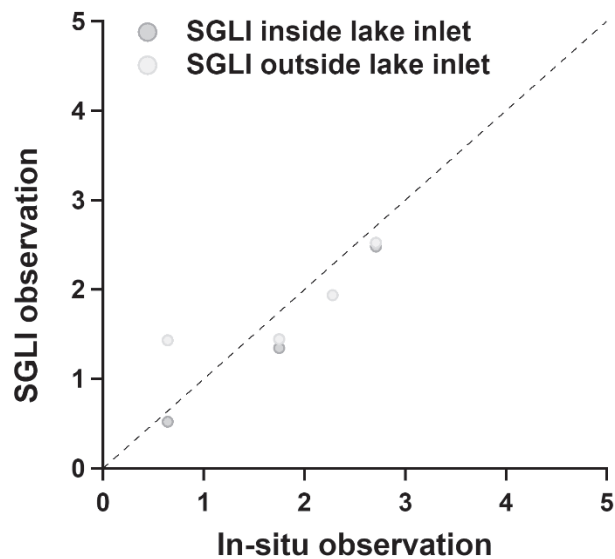


図 7-4)-15 SGLI と現地観測で測定されたクロロフィル a 濃度の比較

(3) 能取湖現地観測と衛星観測の比較

能取湖において2020年3月から8月にかけて実施された4回のクロロフィルa濃度の現地観測データと、GCOM-C衛星搭載多波長光学放射計SGLIによって観測されたクロロフィルa濃度の衛星データを比較し、衛星データの妥当性を検証した。図7-4)-15に示すように能取湖湖口で実施した現地観測データから上げ潮時の2日から4日間の平均値(赤●)を用い、能取湖湖口内(緑▲)と能取湖口外(青棒)の衛星観測データのクロロフィルa濃度と比較した結果、能取湖口外での現地観測データと衛星観測データの変動傾向に良い一致が見られた。流氷が後退した2021年3月末から4月上旬にかけて能取湖口外で $10\mu\text{g/L}$ を超える高いクロロフィルa濃度が観測されており、衛星観測においても春季ブルームを捉えられていることが示唆された。

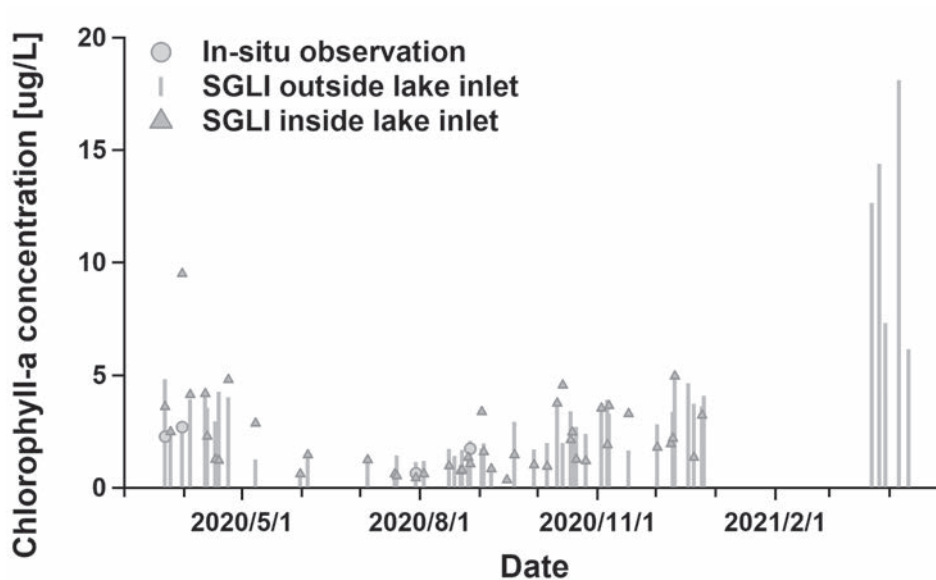


図 7-4)-15 現地観測と SGLI で測定された能取湖湖口およびその周辺におけるクロロフィル a 濃度の季節変化 (2020 年 3 月~2021 年 4 月)

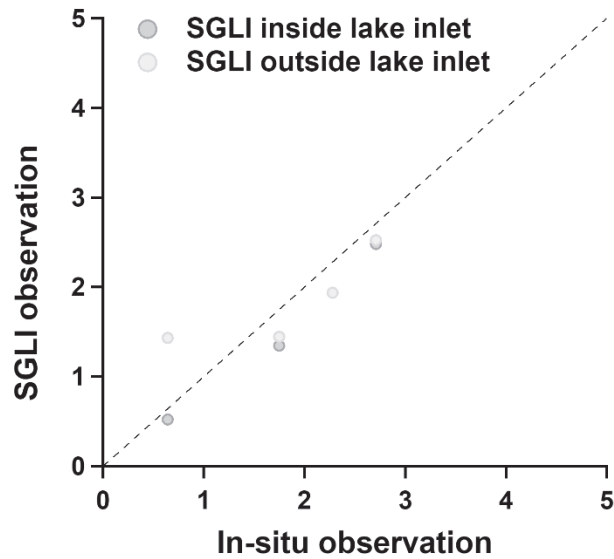
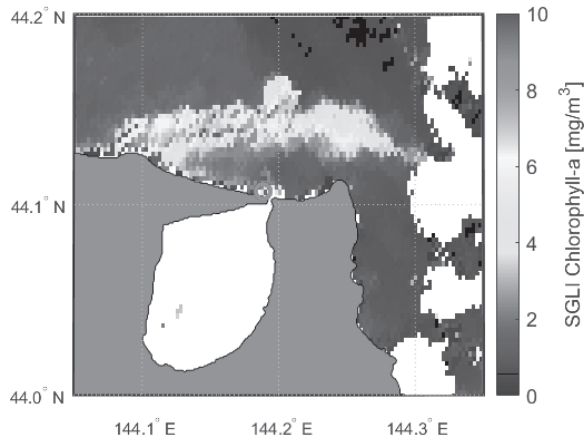


図 7-4)-16 SGLI と現地観測で測定されたクロロフィル a 濃度の比較

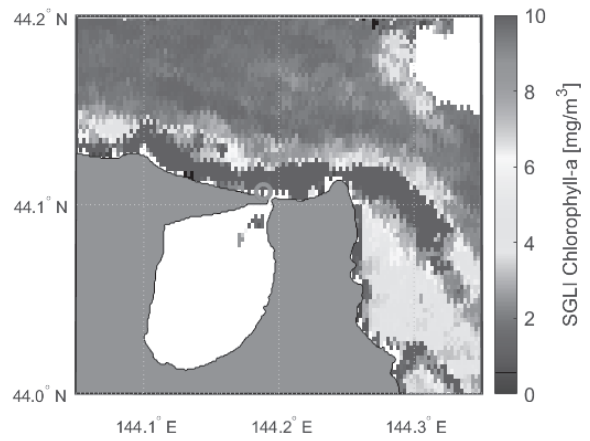
図 7-4)-16 は現地観測と衛星観測のクロロフィル a 濃度の値を比較したものであり、この結果から衛星観測から得られたクロロフィル a 濃度は現地観測結果と相関があり、妥当な値を示していることが確認された。また、現地観測された能取湖湖口では上げ潮時には外海の海水と同じクロロフィル a 濃度を示していることがわかった。このことから能取湖湖口で検証された結果はオホーツク海においても成り立つと考えられる。図 2-3 は SGLI の観測データを利用してオホーツク海のクロロフィル a 濃度の分布と変動を調査した結果を示している。

図 7-4)-17 は 2021 年 3 月から 4 月にかけて SGLI で観測されたクロロフィル a 濃度の空間分布の変化を示している。3 月 23 日では能取湖は全面結氷しており、常呂川河口沖において高いクロロフィル a 濃度を示す帯状の分布が現れ、3 月 27 日は海岸に沿って $10\mu\text{g/L}$ を超える高いクロロフィル a 濃度が現れた。その後、クロロフィル a 濃度が $5\mu\text{g/L}$ を超えるエリアが沖合に広がり、4 月 2 日には能取湖は全面解氷すると同時に広範囲にクロロフィル a 量が $10\mu\text{g/L}$ を超えるエリアが現れ、南西に移動していき、4 月 26 日には 3 月 23 日と同等レベルまで低下した。この海域では流氷などの氷の底部にアイスアルジーが繁殖しており、能取湖の湖氷の解氷と沿岸の春季ブルームの発生に関係があることが推察される。

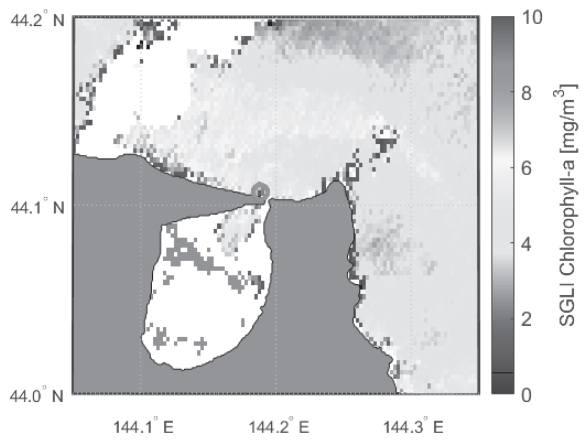
2021年3月23日



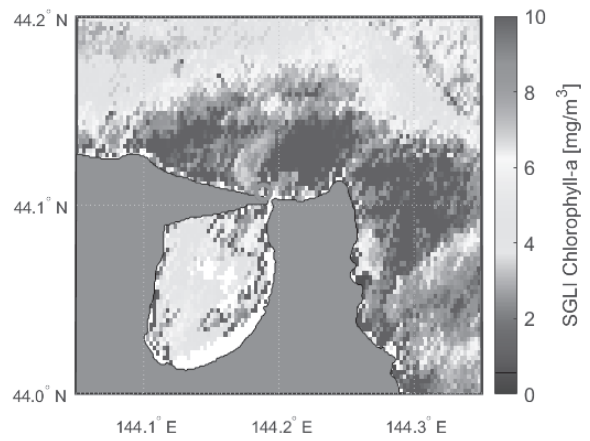
2021年3月27日



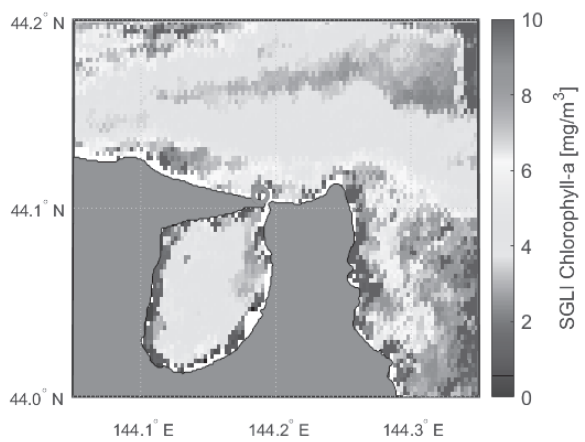
2021年3月30日



2021年4月2日



2021年4月11日



2021年4月26日

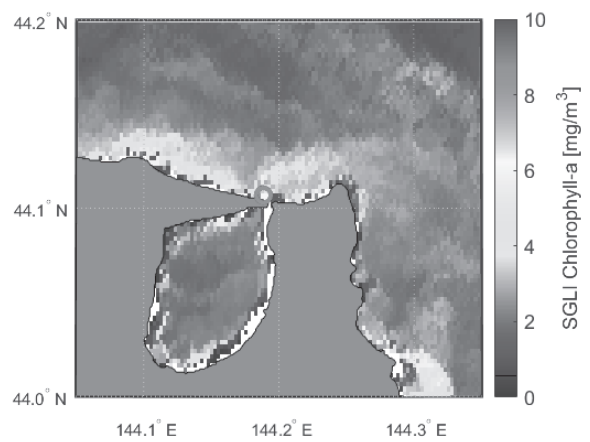


図 7-4)-17 2021年3月から4月にかけて実施した能取湖現地観測（湖口：赤丸地点）と衛星観測（GCOM-C/SGLI）によるクロロフィルa濃度の比較。

5) 小型船舶によるオホーツク海の生態系総合調査

(1) 海洋環境とクロロフィル a 濃度

3月19日は開水面のある海水帯の縁辺で、3月30日は能取湖湖口から沖合に向けた4定点で、CTDを用いた測点における水温、塩分、クロロフィル a 濃度の鉛直分布を調査した。

3月19日は4測点で調査を実施した。いずれも水深20-40mであった。3月30日は能取湖湖口付近から沖合に向けて7測点調査を実施した。湖口付近の St.1-30 では水深20m以浅で、沖合に向けて水深が深くなり、もっとも沖合である St.7-30 では水深は約220mであった。

CTD観測による、2日間の水温の垂直分布を(図5)-(1)-1)に示した。3月19日の水温の鉛直分布をみると、各測点とも表面から水深20mまでは約 -1°C とほぼ一定であった。St.1-19、St.2-19では水深20m付近に水温躍層がみられ、20m以深では底層にむけて水温が高くなる傾向を示し、St.1-19、St.2-19ともに海底付近では 1°C 前後となった。St.3-19では水深30m付近まで水温は -1°C を示し、海底までの数mで水温がやや上昇し、海底付近で 0°C 近い値を示した。St.4-19は表層から底層まで -0.4°C 前後とほぼ一定の水温であった。

3月30日の各測点における表面水温は $0-2^{\circ}\text{C}$ の間にあり、3月19日と比較すると 1°C 以上上昇していた。また表層の水温の鉛直分布は一定ではなく、測点、水深により変動がみられ、水温の異なる水塊が混ざり合っていることが推察される。各測点の水温の鉛直分布は深度が増すに連れ、水温が高くなる傾向がみられた。顕著な水温躍層は、St.2-30では水深5-15m、St.4-30では30-40mに見られた。St.3-30では水深10-40mにゆるやかな水温躍層がみられた。沖合の測点 St.5-30、St.6-30、St.7-30では、表面から水深100m前後まで水深による水温の変動が一様ではなく、水温の異なる水塊が混合している状況にあることが推察される。

次に、塩分の鉛直分布を図5)-(1)-2)に示した。3月19日の塩分は、水温と同様の鉛直分布を示し、St.1-19、St.2-19では水深20m付近まで32.26前後と一定であった。水深20m付近で塩分躍層がみられ、底層にむけて塩分が高くなる傾向を示し、St.1-19、St.2-19ともに海底付近では約33であった。St.3-19では水深30m付近まで塩分は約32.25を示し、海底までの数mで塩分がやや上昇し、海底付近で約32.5となった。St.4-19は表層から底層まで32.5前後とほぼ一定の塩分であった。

3月30日では、表面の塩分は、St.1-30、St.5-30、St.7-30では約32、St.3-30、St.4-30、St.6-30では約32.5、St.2-30で約33と測点により違いが確認された。冬期に勢力の強くなる東樺太海流系の水塊と夏季に勢力の強くなる宗谷暖流系の水塊との交替過程にあることが推察される。いずれの測点も表面から底層に向けて塩分が高くなる傾向を示し、St.3-30、St.4-30で40m以深、St.5-30で120m以深、St.6-30で90m以深、St.7-30で110m以深では塩分は約34の値を示した。冬期、勢力の弱まった宗谷暖流系の水塊が底層付近に沈降したものである可能性が示唆される。

図5)-(1)-3)に、CTDの蛍光値から換算したクロロフィル a 濃度の鉛直分布を示した。3月19日のクロロフィル a 濃度の鉛直分布は、いずれの測点も表面で $1\mu\text{g/L}$ 前後の値を示し、底層に向けて濃度が高くなる傾向にあり、底層で $3\mu\text{g/L}$ 前後となった。

一方、3月30日では、3月19日に比べて相対的に高濃度の傾向を示したものの、鉛直分布の様子は測点によって大きくことなつた。St.1-30では、全層で10-30 $\mu\text{g/L}$ と高いクロロフィル a 濃度を示した。St.2-30では、表面から水深8m付近まで約0.5 $\mu\text{g/L}$ であったが、水深10m以深では約5 $\mu\text{g/L}$ 前後の値を示した。St.3-30では、表面で約7 $\mu\text{g/L}$ の濃度を示し、5m以深では2.5 $\mu\text{g/L}$ 前後の値となつたものの、スポット的に4 $\mu\text{g/L}$ 程度の濃度を示すことがあつた。St.4-30では、表層で約24 $\mu\text{g/L}$ の値を示し、深度とともに濃度が低くなる傾向を示し、15m付近で0.2 $\mu\text{g/L}$ 前後となつた。水深35m付近まで低濃度が続いたが、その後、濃度が高くなる傾向がみられ、40m以深では4 $\mu\text{g/L}$ 前後の値が底層まで続いた。St.5-30では、表面では約2.5 $\mu\text{g/L}$ の値を示し、深度が深くなるに連れて濃度が高くなり水深5m付近で15 $\mu\text{g/L}$ 前後の値となつた。この高濃度は水深35m付近まで続き、35mから60mにかけて深度につれて濃度が低くなり、水深60m付近で約1 $\mu\text{g/L}$ となつた。60m以深では1-2 $\mu\text{g/L}$ の濃度が続くが、110m以深で濃度が高くなり、海底付近で5 $\mu\text{g/L}$ 前後の値を示した。St.6-30では、表面で約15 $\mu\text{g/L}$ の高い値を示し、水深約40mまで深度に連れて濃度が低くなる傾向を示し、水深40m付近で1 $\mu\text{g/L}$ 前後となつた。40mから90m付近まで1 $\mu\text{g/L}$ 前後の濃度であつた。さらに90m以深ではクロロフィル a 濃度がやや高くなり、海底まで2 $\mu\text{g/L}$ 前後の値を示した。St.7-30では、表面で約15 $\mu\text{g/L}$ の高い値を示し、水深約40mまで深度に連れて濃度が低くなる傾向を示し、水深40m付近で約1 $\mu\text{g/L}$ の濃度を示し、水深4m付近まで深度が深くなるに連れて濃度が高くなり、5mで20 $\mu\text{g/L}$ 近くまで上昇した。5m以深では20m付近まで深度とともに濃度が低くなる傾向を示した。特に水深15m付近で顕著な減少を示した。15m以深から40m付近までは、クロロフィル a 濃度は3-8 $\mu\text{g/L}$ の間で増減した。水深40m以深では海底付近まで1 $\mu\text{g/L}$ 前後の値をしましたものの、ときおり2-3 $\mu\text{g/L}$ 程度の濃度を示した。

海氷が存在した3月19日にくらべ、海氷が遠ざかつた3月30日ではクロロフィル a 濃度が顕著に高くなる傾向がみられた。また水深数十m以深から底層層にかけて、一般にみられないほどの高いクロロフィル a 濃度が確認された。海氷中で増殖したアイスアルジーが海氷から放出され、中底層に沈降していったものである可能性が示唆された。

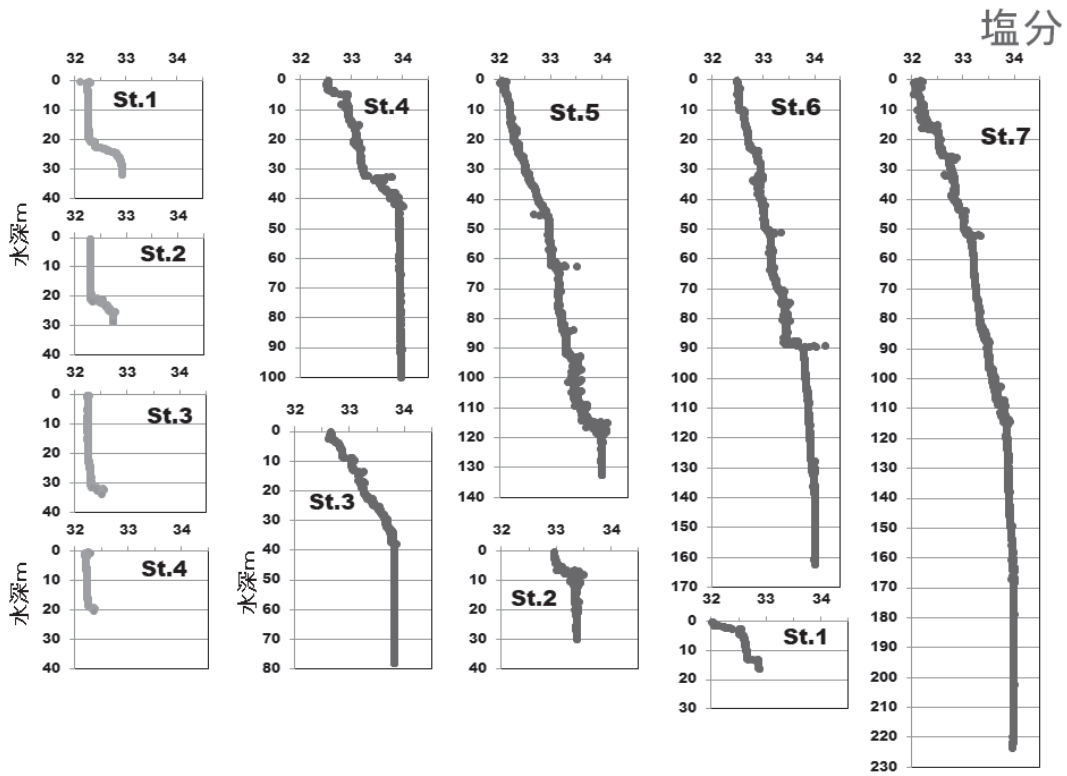


図5)-(1)-2 2021年3月19日（水色）および30日（青）の観測定点（St1～7）におけるCTDによる塩分測定値の鉛直分布

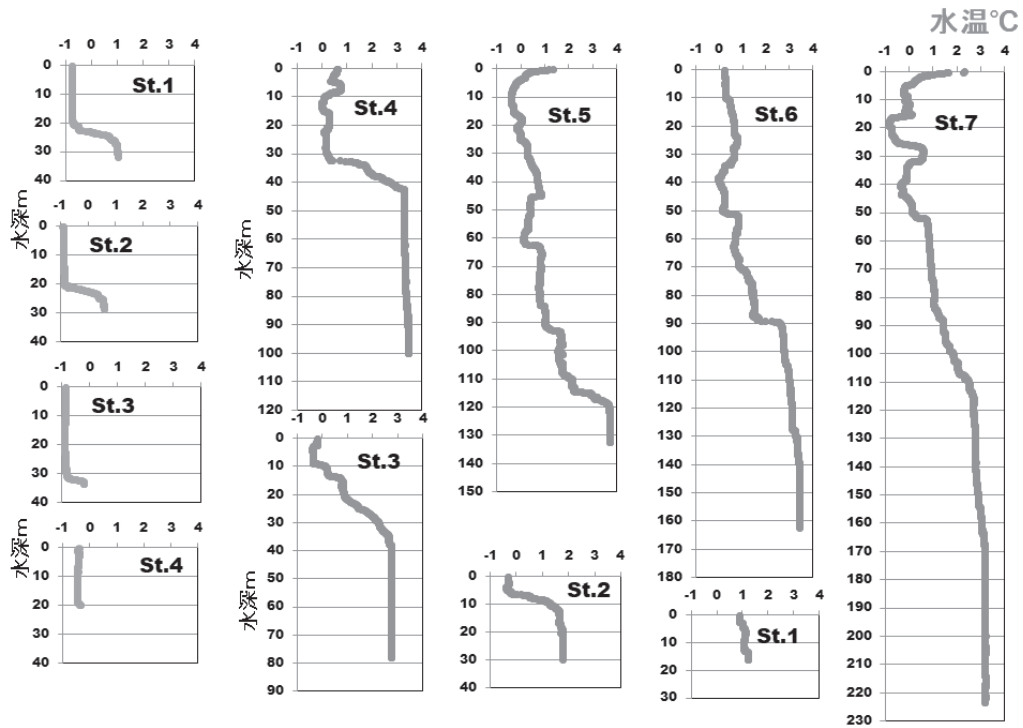


図5)-(1)-1 2021年3月19日（ピンク）および30日（赤）の観測定点（St1～7）におけるCTDによる水温測定値の鉛直分布

クロロフィルa濃度 $\mu\text{g/L}$ (mg/m^3)

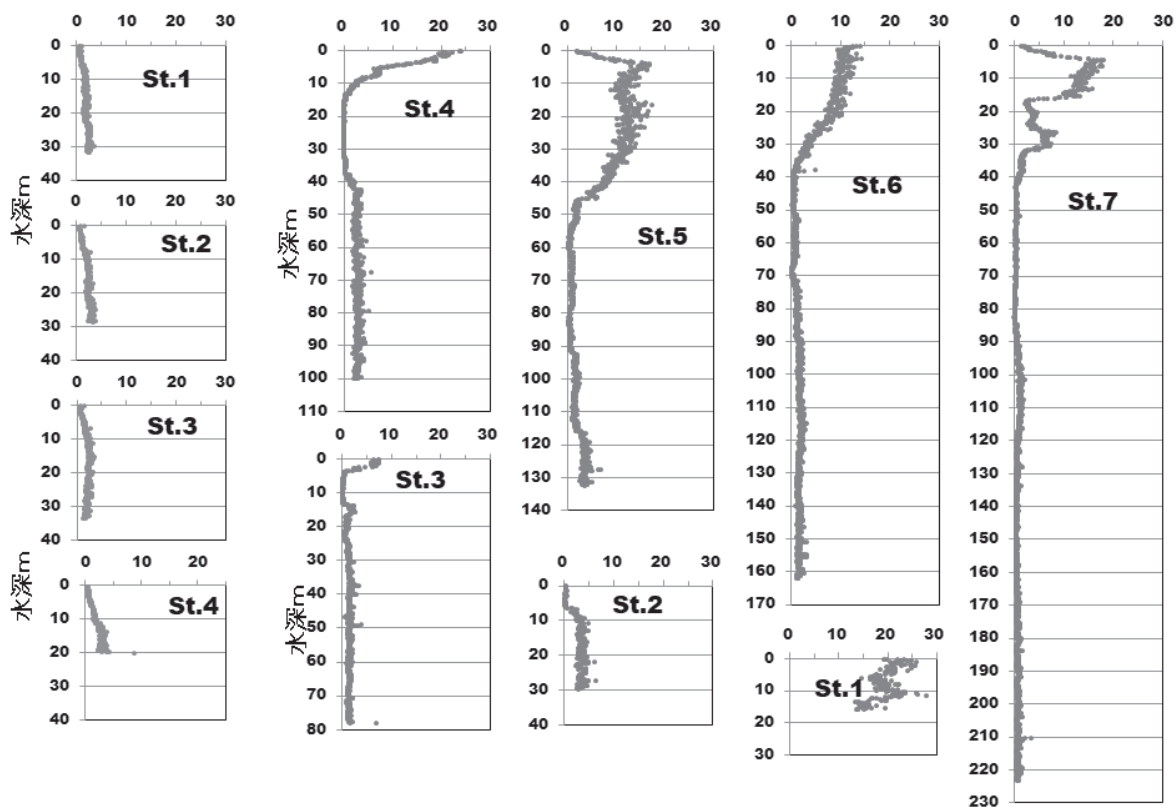


図5)-(1)-3 2021年3月19日(オリーブ)および30日(緑)の観測定点(St1~7)におけるCTDによるクロロフィルa濃度測定値の鉛直分布

(2) CTD 観測値と衛星観測値の比較

図 5)-(2)-1 に 2021 年 3 月 19 日および 3 月 30 日に実施した小型船による現地観測地点（赤丸）と、SGLI による流氷分布とクロロフィル a 濃度分布を比較した結果を示す。図 5)-(2)-1 (a) に示すように、3 月 19 日は流氷が多く残っており、雲が広がっていたため現地観測と SGLI 観測のクロロフィル a 濃度の比較は行えなかったが、3 月 30 日は流氷が沖合へ去り晴天であったため、クロロフィル a 濃度の比較を行うことができた。

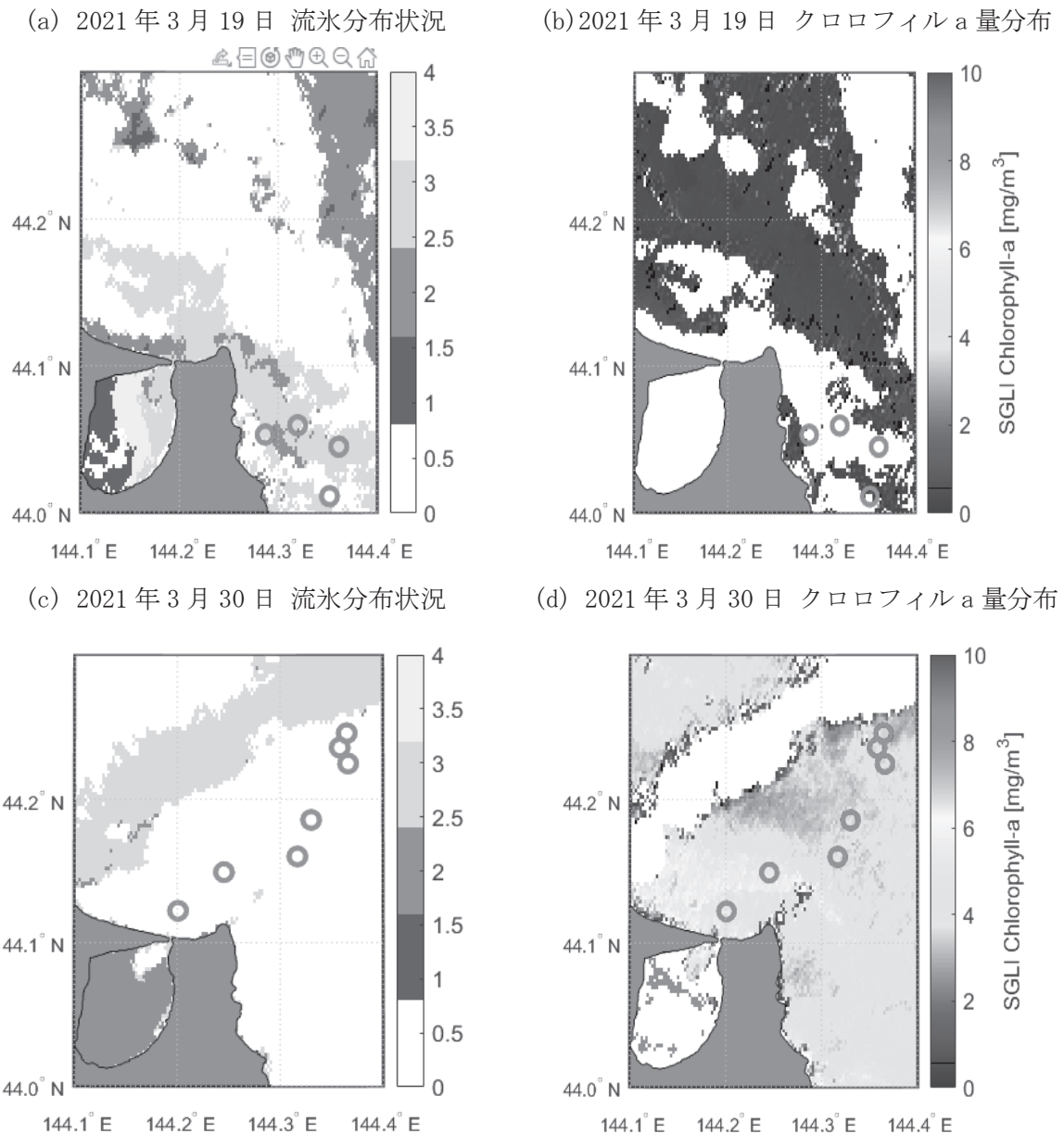


図 5)-(2)-1 2021 年 3 月 19 日と 3 月 30 日に実施した現地船舶観測と衛星観測 (GCOM-C/SGLI) の比較。

- (a), (c) 水色：冠積の無い薄氷，青色：冠積の有る厚氷，黄色：雲，白：開放水面
- (b), (d) カラースケール：クロロフィル a 量，白：雲や流氷

図 5)-(2)-2 は 2021 年 3 月 30 日に実施した小型船舶観測で測定されたクロロフィル a 濃度と、SGLI で観測されたクロロフィル a 濃度を比較した結果を示している。この図から、前節の図 2-2 で示した能取湖湖口でのクロロフィル a 濃度の実測値と衛星観測値の高い相関関係は見られず、SGLI の観測値は変動幅が小さく、5 $\mu\text{g/L}$ 前後の値を示した。春季ブルームのように非常に大きい値を示す場合は測定深度が変化するために実測値と衛星観測値の差が大きくなると考えられる。また、3 月 30 日は晴天であったものの、海面付近では薄いもやがかかっていたところもあり、大気中の水蒸気の影響が差の原因の 1 つになっていると推察される。

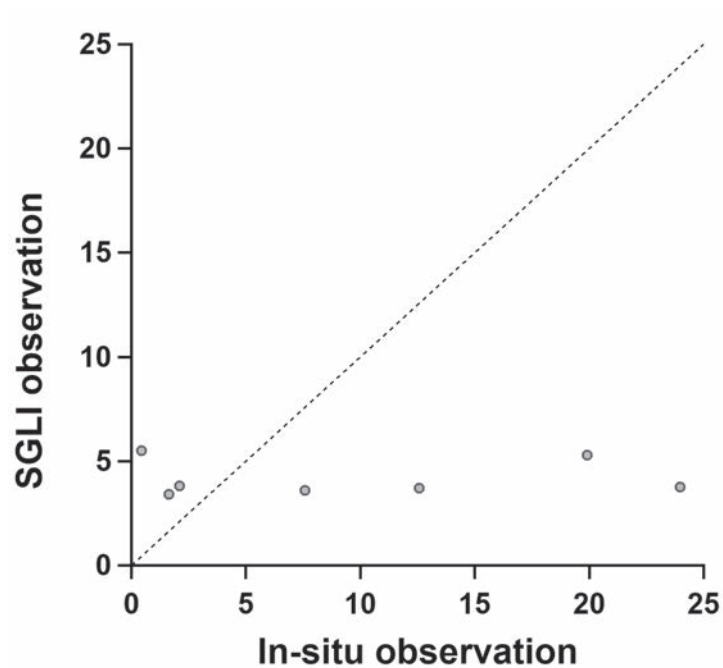


図 5)-(2)-2 SGLI と小型船舶で測定されたクロロフィル a 濃度の比較

(2)動物プランクトン採集調査

3月19日は4地点、30日は7地点でプランクトンネットによる動物プランクトン採集を行った。このうち3地点では異なる深さの2地点で採集を行った。

30日の採集においては、どの地点でもプランクトンネットに海水から遊離したアイスアルジーと思われる藻類が大量にネットに付着した。

植物プランクトンを餌とし、クロロフィル量との関連が高いと予測されるカイアシ類の密度は、3月19日に最大地点で900 ind/m³（4地点平均およそ700 ind/m³; 図5)-(3)-1)、3月30日では最大地点で約600 ind/m³（10地点平均およそ350 ind/m³; 図5)-(3)-2)、乾燥重量でみると、19日は平均で約10mg/m³、30日は平均約7.5mg/m³で、いずれも19日より30日に減少した。サンプリング地点や深さも異なるため正確な比較とはいえないが、今回の結果からはクロロフィル量とカイアシ類との関連は見いだせない。

カイアシ類のサイズに着目すると、19日も30日も2mm未満の個体数密度が非常に高い。一方、30日調査時のST7の250m地点では、2mm以上のカイアシ類が50m地点の約28倍の密度を示した。表層部でのサンプリング回数の多い今回の調査では、日中でも表層にいる傾向のある、小さなサイズのカイアシ類に偏ってサンプリングしている可能性が指摘され得る。たとえば、Nakagawa et al. (2016)では、比較的近い時期のオホーツク海域においてPseudocalanus属(2mm未満)およびNeocalanus属(2mm以上)のカイアシ類が多かったことを示しており、表層部にはPseudocalanus属が多い可能性が考えられる。

既存研究において、2013年4月15日にオホーツク海沿岸で調べられたカイアシ類の密度は、約2750 ind/m³と非常に高い。3月に実施した本研究の調査は、おそらく海水由来のアイスアルジーが海中に放出される前かその直後にあたり、引き続きスプリングブルームを経て、動物プランクトンが爆発的に増加する前であったと考えられる。4月以降にも調査を実施することにより、連続的な動物プランクトンの季節的な動態を把握できると考えられる。

3月30日の調査において、同じ地点で異なる深さでサンプリングをしたSt.3、St.5、St.7でカイアシ類の個体数密度を比べると、2mm以上の個体はクロロフィルa濃度が高い表層部よりも、三ヶ所の定点すべてにおいて深い方の地点が多かった。とくに最も深い250mのSt7では、突出して密度が高かった。今回のサンプリングを行ったのは日中であるが、2mm以上のカイアシ類は表層に付近で採餌する魚類や海鳥による捕食回避のための日周鉛直移動により中層から深層に多く分布していた、もしくは季節的鉛直移動により深層で休眠状態にあった可能性が考えられた。

一方、2mm未満のカイアシ類は、St.3、St.5、St.7において、すべて深い場所よりも表層部に多かった。また、7地点中、個体数密度の高い地点は高い方からSt5(50m)、St7(50m)、St1(20m)であり、これは2mm以上のカイアシ類の個体数密度が低い順と一致した。

2mm未満のカイアシ類は、日中でも餌である植物プランクトンの多い表層部に多かったといえる。これは、大型のものに比べると魚類や海鳥類の餌とはなりにくいと考えられることから、日中でも餌の多い場所で採餌しているという積極的な理由のほか、植物プランクトンという餌を巡る競争の回避のため、大型カイアシ類と生息空間をずらして分布しているとい

う消極的な理由も考えられえる。さらに、Nakagawa et al. (2016)よりこれらの小さなカイアシ類が *Pseudocalanus* 属であるとする、捕食者からの視認を回避するため日中は採餌せずに表層部に分布している可能性もある。

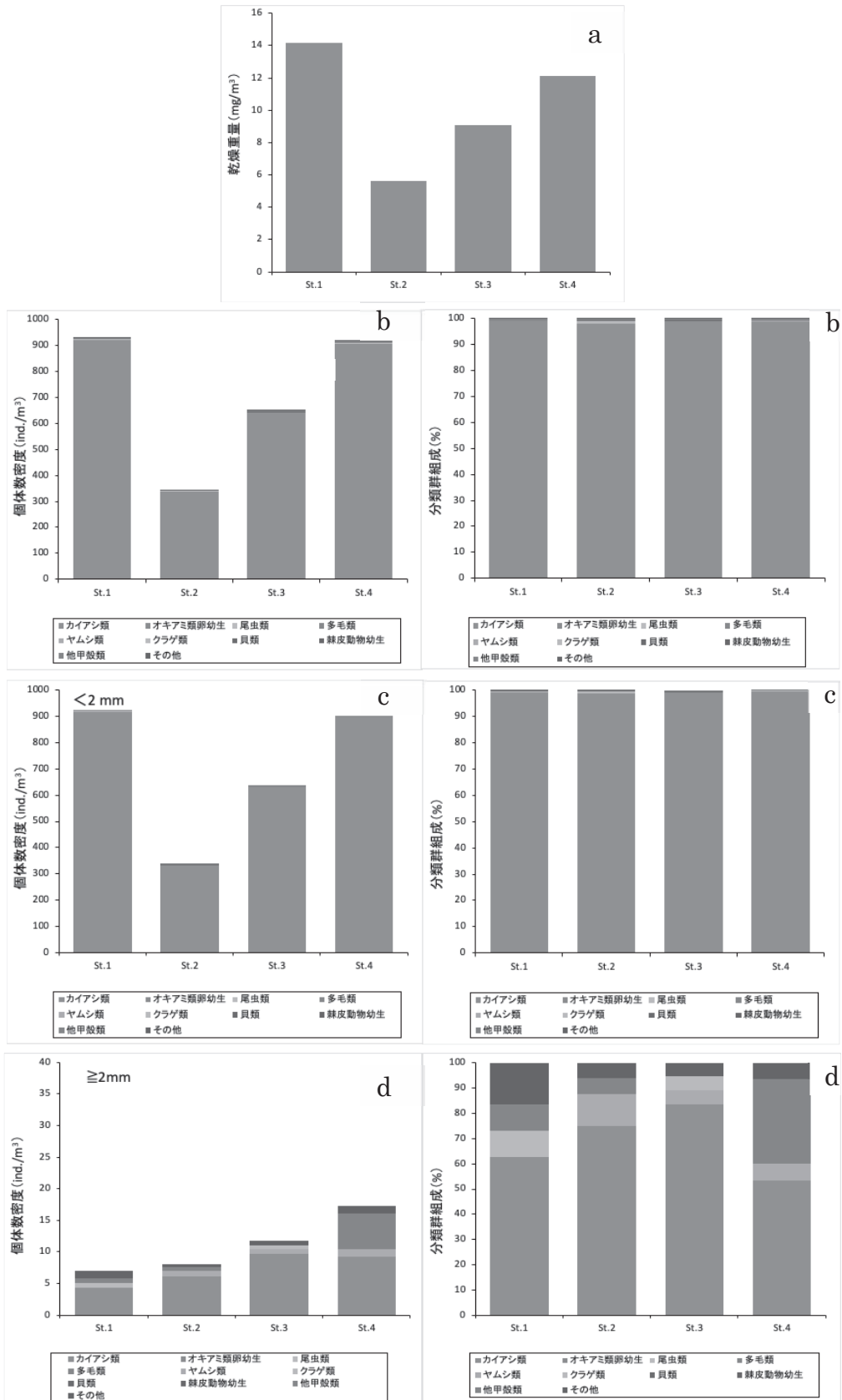


図5)-(3)-1 3月19日の結果：全動物プランクトンの乾燥重量比 a および全て b, 2mm 未満 c, 2mm 以上 d の動物プランクトンの個体数密度と分類群組成

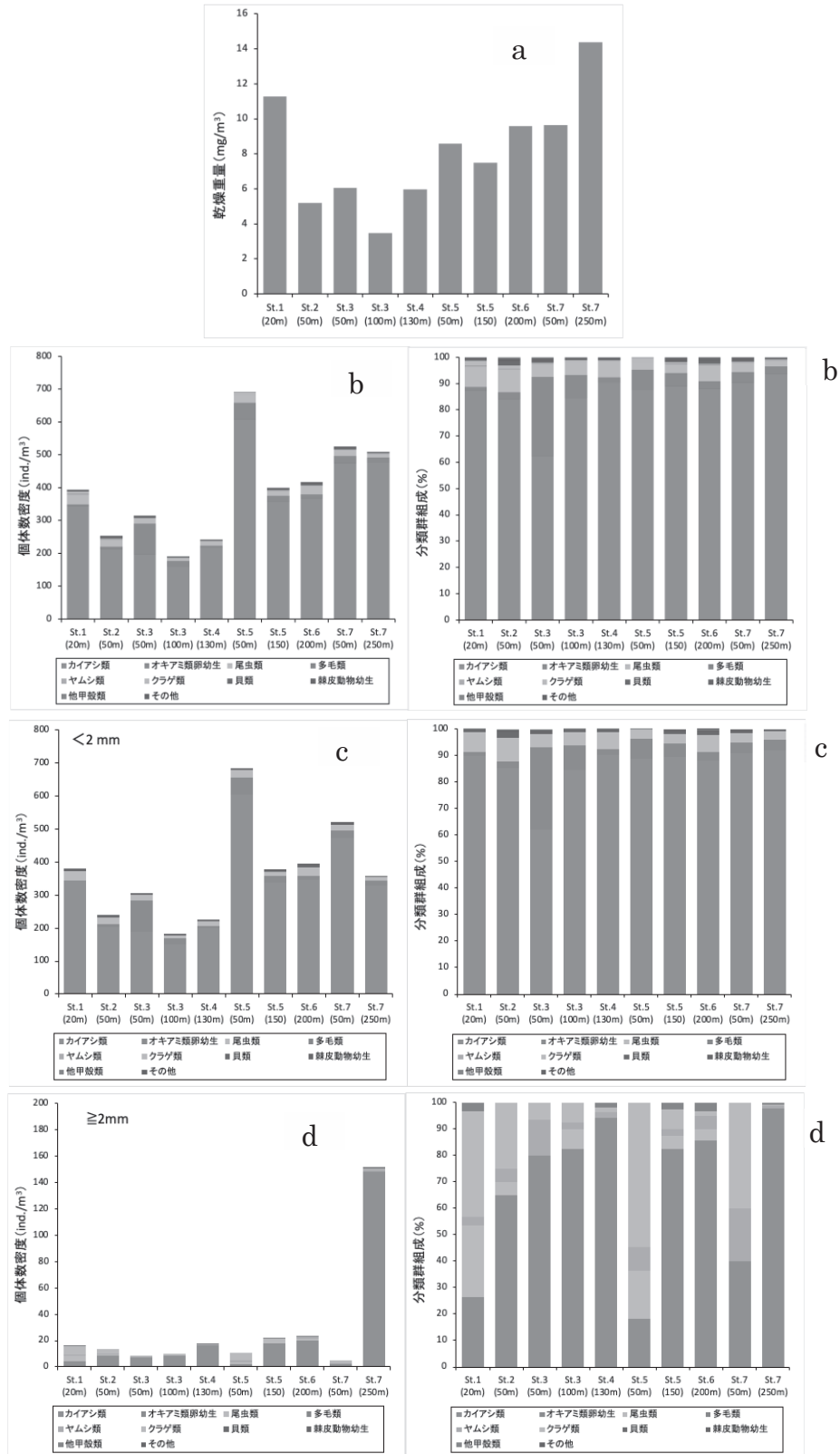


図5)-(3)-2 3月30日の結果：全動物プランクトンの乾燥重量比 a および全て b, 2mm 未満 c, 2mm 以上 d の動物プランクトンの個体数密度と分類群組成

(3)海鳥類センサスの結果

海鳥類のセンサスの結果を図 5)-(3)-3 に示した。

沿岸域に流水帯があり、さらに沖には本体とみられる海氷域が広がっていた 3 月 19 日は、網走沿岸から 10 km 未満の海域で調査を実施した。この日は、300 羽を超える大きな群れも含め、コウミスズメ *Aethia pusilla* が最も多くみられた。一方、海氷が網走沿岸から去った 30 日のセンサスでは、コウミスズメは全く観察されなかった。19 日と 30 日では調査経路が異なっており、その影響である可能性も否定はできないが、たとえば餌資源の分布の点から考えると、コウミスズメでは動物プランクトン、とくに小型種の多いカイアシ類を採食する (Gaston & Jones 1998、 Dorresteijn et al. 2012)。しかし、コウミスズメの餌となる可能性のある 2 mm 以上のカイアシ類の個体数密度は、少なくとも 30 日より 3 月 19 日のほうが多いとは言えず(図 5)-(3)-1 および 2)、19 日はプランクトン調査などを実施したすべての定点付近で観察されていることから、今回の調査結果からコウミスズメの生息の有無をカイアシ類の豊富さや分布からは説明することは困難である。一方、3 月 19 日の網走沿岸一帯には航行可能な解放水面は残されていたものの、ほぼ海氷に覆われ、さらに沖合にあるさらに大きな海氷帯に囲まれる形になっていたことから、海氷分布の影響を受けて網走沿岸で多くみられた可能性が考えられる(図 5)-(2)-1)。同様に、3 月 19 日に網走港の外側付近で小さな群れが観察され、30 日には観察されなかったコオリガモ *Clangula hyemalis* についても同様なことがいえる。逆に、30 日に沿岸付近で観察されたシノリガモ *Histrionicus histrionicus* やウミアイサ *Mergus serrator* は、19 日には確認されなかった。先に述べたコウミスズメやコオリガモは主に沖合海上に生息する種であるが、シノリガモは越冬期には主に岩礁海岸で甲殻類や貝類、藻類などを、ウミアイサは沿岸部や入江などで主に魚類を餌としており、これらの種は海氷に覆われていた 19 日は海氷域を避け、センサスを行った航路よりもさらに海岸に近接した場所にいた可能性が考えられる。19 日、30 日共に観察数が多かったのは、魚類や主食とするヒメウであった。図 5)-(3)-3 から、両日ともに比較的沿岸付近の浅水域に多い傾向がみられた。

海ワシ類については、3 月 19 日は海氷上にとまるオオワシ成鳥計 3 個体のほか、オジロワシ成鳥とオオワシの若鳥が各 1 個体確認された。狭い範囲内のみで調査を実施した今回の結果から、ワシ類の分布と主要な餌種のひとつである海鳥類の分布との対応関係を考察することは困難であった。海氷のある時期の調査例数を増やしたうえで、両者の生息分布の重複等を複数の空間レベルで分析することにより、最適なレベルにおいて関係性が示されるかもしれない。一方、海ワシ類が海域で生息するために必要不可欠な狩りや休息のためにとまり場は、第一に海氷の分布で制限される。海氷のない 3 月 30 日の調査において海ワシ類が海上で確認されることはなく、海域での生息は、渡りなどで海上を飛行する場合以外は、餌資源よりもまず、海氷の有無がワシの生息可能性を決定しているといえる。

今回のセンサスの結果から、動物プランクトンを主食のひとつとしているのはコウミスズメのみであり、他の海鳥類については動物プランクトンを餌とする魚類や甲殻類等を主食としていることから、餌種分布との直接的な関係性を考察することはできない。海ワシ類についても、海鳥類以外の重要な餌資源である魚類の捕りやすい場所にいる可能性も考えられる。環境 DNA 分析

手法により越冬期の魚類の生息状況を調べることと共に、本プロジェクトで実施した調査結果を詳細に分析し、目視調査が困難な一次生産力から魚類に至る各食物連鎖段階の主要種について、時空間的な分布や量的変化の関係性を明らかにするための定量的解析方法やそのための最適な調査デザインを再考して研究を進展させる必要がある。

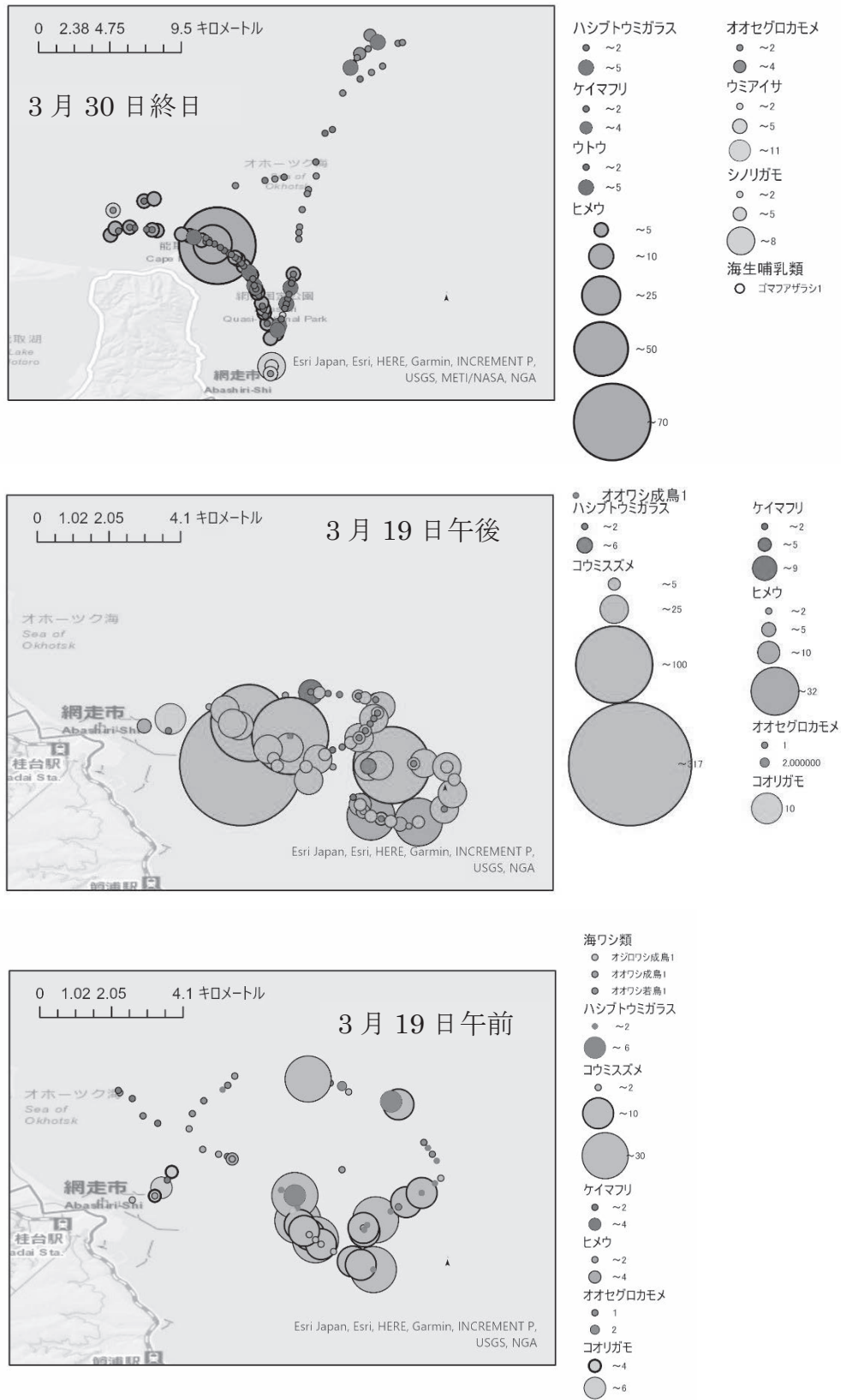


図5)-(3)-3 センサス日・時間帯ごとの海鳥類、海ワシ類および海性哺乳類の分布と個体数

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

2)-(2) 本研究で使用した客観解析の気象・海象情報は、現地観測データの無い遠隔地においても信頼できるデータが提供されている。空間分解能は水平方向で 31km と粗いものの、鉛直方向では 20m、時間分解能は 1 時間と細かく、海ワシの飛行経路に沿った位置と高さのデータを得ることができる。その他の渡り鳥等の生息環境の解析にも有用と考えられる。

4) 春季ブルームのような高濃度のクロロフィル a 濃度の測定精度に課題があるが、能取湖湖口での通年観測によって SGLI によるクロロフィル a 濃度のモニタリング手法が有効であることが示された。平譚ら (2017) らの手法を応用することで、SGLI から観測されるクロロフィル a 濃度 (CHLA) と光合成有効放射 (PAR) から次式によって基礎生産力 (NPP) を換算することができる。

$$NPP(\lambda, t, z) = \Phi(\lambda, t, z) \times a_{*ph}(\lambda, z) \times CHLA(z) \times PAR(\lambda, t, z)$$

ここで、 λ は波長、 t は時間、 z は深度であり、 Φ は CHLA あたりの光合成炭素固定量子収率、 a_{*ph} は CHLA あたりの光吸収係数を表している。正確な基礎生産力を求めるには Φ と a_{*ph} を決定する必要があるが、定性的に基礎生産力の高い海域を議論するのであれば、SGLI から得られる CHLA と PAR から計算することが可能である。

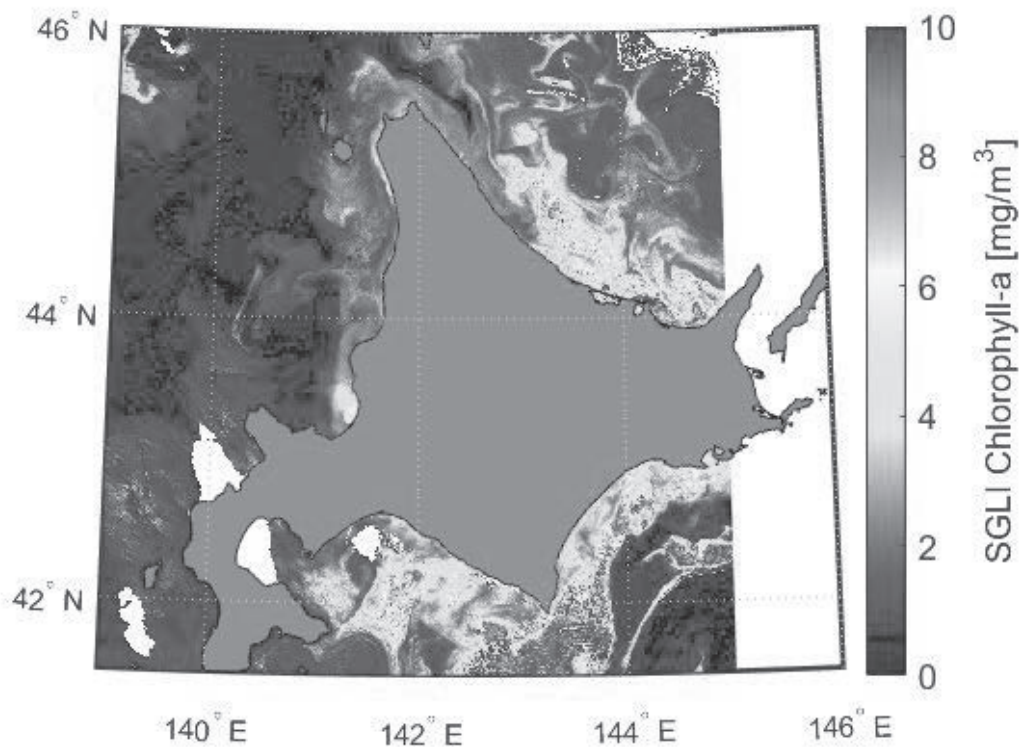


図 2-6 SGLI によるクロロフィル a 濃度の広域分布の例 (2021 年 4 月 2 日)

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

1) 遠隔追跡調査による海ワシ類個体の渡り移動経路と包括的生息地の特定

オジロワシとオオワシの両種を対象とし、海ワシ類の渡り移動経路データが得られたが、アムール川流域の巣で生まれたオジロワシの巣内ヒナはすべて日本に渡来しなかったことや、2020年度にマガダンでGPS装着調査ができなかったことなどから、とくに海域の渡りの際に利用される生息環境解析に十分なデータ数が得られなかった。海域の渡りに焦点を当てた遠隔追跡をさらに実施したい。一方、渡り移動経路や越冬地には、個体や年による変化がみられた。それらの変化をもたらす要因も含めて移動経路や生息地の決定に関わる要因について解析を進め、2)の経路予測や生息地推定モデルの構築に供したい。

2) 陸域ベースマップ作成と陸海域の海ワシ類生息環境の解析

陸域における高精度な広域GISベースマップ作成において、灌木、湿地低木、疎林の分類を行ったところ、精度が低かった。海ワシ類の生息環境解析において、低木林と疎林の区別は必要と考えられるが、Sentinel-2の衛星画像ではそれぞれの分類スペクトルの特徴を捉えることができなかった可能性が指摘され得る。そのため、生息環境解析や生息地推定を行う際にはより高精度な衛星画像や既存の被覆図を適宜用いて修正を施すなどの対応をとると共に、深層学習法など新たな技術手法やより高解像度の衛星画像を用いることなどにより、被覆分類のさらなる精度向上を目指す必要もある。

3) 海ワシ類の主要餌種の生息状況の把握・推定

本分担課題で残された問題点は過年度の報告書ですでに指摘してきたとおり、第1にロシア地域での情報収集やロシア研究機関による研究成果を十分に取り込んで生かせなかったことである。環オホーツク海に及ぶ広域な地理的範囲における生態系保全は国際的な連携が必要であり、日露双方のより活発で自由な研究交流の発展が望まれる。第2に、課題目標を到達する上で研究期間や予算が十分ではなく、広域な地理的範囲にわたる情報の収集が限られ、得られた成果はあくまで概要に留まったことである。研究成果をより深化させるためには、第1の問題点への対応を踏まえた、研究の中長期的な継続実施が必要であろう。

4) 海洋の物理環境に基づくオホーツク海域の一次生産量の推定

本研究の結果、水柱の一次生産力測定は、溶存酸素濃度の動態より測定が可能であることが示された。一方、海氷生成期の一次生産は、水柱における植物プランクトンによる一次生産に加え、海氷中に生息するアイスアルジーによる一次生産も加味する必要がある。本研究では、定着氷における一次生産力測定を試みたものの、有効な手法確立までには至らなかった。2021年のオホーツク海沿岸において海氷分布が確認された3月19日と海氷が開けた3月30日のCTDによるクロロフィル濃度の鉛直分布の様子は、3月30日で顕著に高い値を

示し、さらに水深 50m 以深でも高いクロロフィル濃度が確認された。このことは融氷期に相当のアイスアルジーが水柱に放出されたことを示す結果と考えられる。その点で、冬季の一次生産力を評価する上で、アイスアルジーの一次生産力評価は今後の重要な課題といえる。アイスアルジーの一次生産力評価に向けた今後の方策としては、定着氷のアイスアルジーの一次生産力測定に向けた手法確立が当面の課題といえる。能取湖をベースに課題解決に向けて研究を進めていく必要がある。

2020 年度は、能取湖の湖口を中心として一次生産力の測定を行ってきた。一次生産力測定に際しては、上げ潮時に採水し、オホーツク沿岸域の水塊流入時のデータ取得につとめた。これから 2019 年度、2020 年度と得られた現場データの結果と衛星データとの比較検討をおこない、オホーツク沿岸域の一次生産力推定を試行する。

海域の一次生産力の観測については、現場観測データは採水時の植物プランクトンによる一次生産力の評価であるのに対し、衛星観測データは同一海域の表面水のクロロフィル a 濃度の変化から算出された値である。これら測定方法の異なる手法を統一した評価基準を設定することが今後の課題として挙げられる。

一方、今年度の能取湖での現場観測結果から、衛星観測によって信頼度の高い湖沼のクロロフィル a 濃度の観測が可能であることがわかった。残りの研究期間において衛星観測から得られたクロロフィル a 濃度と水温の分布から、オホーツク海北海道沿岸域における基礎生産力の高い海域とその時期を特定し、海ワシ類の生息環境の評価を行う予定である。

5) 小型船舶を用いたオホーツク海域生態系調査

3 年間の調査結果を用いた項目間の関連性について、定量的な解析を実施することができなかった。今後、適切な解析スケールなどを検証したうえで解析を行い、今後の研究の発展につなげたい。

6) 極東地域における海ワシ類と陸海域生態系の越境的保全に関するワークショップの開催

今年度はコロナ感染拡大のため開催できなかった。今後、オンラインによる研究会開催などにより、本プロジェクトの成果を活かし、今後の日露共同研究の進展を図りたい。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Ito, Y., S. Matsui, S. Shiraki, Ueda K. 2020. Habitat selection of Skylarks during the breeding season on the volcanic slope of Mt. Tarumae. *Ornithological Science* 19:167-175.
- 2) Kitano M., M Ino, S Smallwood and Shiraki S. 2020. Seasonal Difference in Carcass Persistence Rates at Wind Farms with Snow, Hokkaido, Japan. *Ornithological Science*, 19: 63-71.
- 3) 松田烈至, 園田 武, 東 義洋. 2020. フルボ酸鉄シリカ資材による寒冷地ヤマトシジミ漁場

の底質改良実験. 水環境学会誌, 43:153-163.

- 4) 中村幹雄・森久拓也・杉山ゆかり・尾島徹哉・森山今日子・園田 武・松田烈至. 2020. 2018年夏季の宍道湖のマクロベントスと水質・底質環境総合調査結果. Laguna (汽水域研究), 27:69-86.
- 5) Uni, Y. and K. Tateyama. 2020. Ice-related Strandings of Killer Whales at Shore in the Southern Okhotsk Sea, Japan Cetology, 30, 11-19, doi:10.5181/cetology.0.30_11.
- 6) 渡辺由梨加, 館山一孝, 泉山耕, 佐藤和敏. 2020. AMSR2 データを用いた北極海一年氷の海水厚推定アルゴリズムの改良, 北海道の雪氷, 39, 23-26.
- 7) 松田烈至, 園田 武. 2021. 河口閉塞処理施設が施工された北海道オホーツク海沿岸海跡湖シブノツナイ湖の湖沼環境と底生生物群集の現状. 土木学会論文集 B2 (海岸工学) 77 : 28-39.
- 8) Watanabe, Y., K. Tateyama N. Shoji and K. Sato. Microwave remote sensing of first year ice with snow cover, Journal of the International Workshop on Modern Science and Technology 2021 in press.
- 9) 木村宏海, 八久保晶弘, 館山一孝, 谷川朋範, 小嶋真輔: 塩を含む積雪の含水率測定法, 雪氷, 印刷中
- 10) 渡辺由梨加, 館山一孝, 東海林尚登. 2021. 積雪の影響を考慮した海水厚推定アルゴリズムの改良, 北海道の雪氷, 印刷中.

その他 (学会発表等)

- 1) Konai, K., Shinohara, K., Sonoda, T. & R. Matsuda. 2020. Conceptual Hydraulic Model for Estimation of Iron Behavior in Lagoon at the Coast of the Sea of Okhotsk. Water and Environment Technology Conference Online 2020, Japan Society on Water Environment.
- 2) 松田烈至, 園田 武. 2020. 汽水性二枚貝ヤマトシジミの成長に応じたアンモニア耐性の変化. 第54回日本水環境学会年会 (岩手大学)
- 3) 松田烈至, 園田 武. 2020. アンモニアがヤマトシジミの生残に及ぼす影響. 令和2年度日本水産学会春季大会 (東京海洋大学)
- 4) 園田 武, 松田烈至, 御立田有史, 瀬戸浩二, 駒井克昭. 2020. 沿岸海跡湖を介した網走湾の水質・底質環境: 2013-2019 モニタリング結果. 第54回日本水環境学会年会 (岩手大学)
- 5) 園田 武, 石坂和也, 相田貴斗, 比嘉 匠, 松田烈至, 瀬戸浩二, 阪口耕一, 松ヶ崎光悦. 2020. ホタテ養殖漁場サロマ湖のベントス群集と底質環境: 過去40年間の推移. 令和2年度日本水産学会春季大会 (東京海洋大学)
- 6) 園田 武, 大武 蓮, 大野翔太, 別所春輝, 池淵貴志, 松田烈至, 末澤海一, 川尻敏文. 2020. 網走湖産ヤマトシジミの産卵生態: 2019年の状況. 令和2年度日本水産学会春季大会 (東京海洋大学)
- 7) Sato, K., K. Tateyama, T. Watanabe. 2020. Mapping Lake Ice Thickness Distribution Using UAV in the Saroma-ko Lagoon, The 11th Symposium on Polar Science, Tokyo (Online), December 2020.
- 8) Tateyama, K. and H. Ohno. 2020. Development and Installation of Network Connected Meteorological

Sensors in the Shiretoko World Natural Heritage region, The 11th Symposium on Polar Science, Tokyo (Online), December 2020.

- 9) Tateyama, K., H. Enomoto, M. Nakayama, N. Shoji, Y. Watanabe, S. Ohira, K. Sato. 202. Radiation characteristics of thin sea ice in the ice tank experiment using multifrequency passive microwave radiometers, Japan Geoscience Union Meeting 2021, Online, June 3, 2021.
- 10) 佐藤 敏, 舘山一孝, 白木彩子, 村田悠介. 2021. 海ワシの飛行ルートと海象・気象状況との関係, Japan Geoscience Union Meeting 2021, Online, June 3, 2021.
- 11) 木村宏海, 八久保晶弘, 舘山一孝, 谷川朋. 2020. サロマ湖海氷上の積雪含水率の測定, 雪氷研究大会 (2020・オンライン), 日本雪氷学会・日本雪工学会.
- 12) 佐藤功坪, 舘山一孝, 渡邊達. 2020. サロマ湖における UAV を用いた湖氷フリーボードの推定, 雪氷研究大会 (2020・オンライン), 日本雪氷学会・日本雪工学会.
- 13) 松田烈至, 園田 武. 2021. 汽水性二枚貝ヤマトシジミに対する流域由来物質の影響. 汽水域研究会第 12 回大会, 汽水域合同研究発表会 2021 (島根大学松江キャンパス・オンライン)
- 14) 渡辺由梨加, 舘山一孝, 東海林尚登. 2021. 積雪の影響を考慮した海氷厚推定アルゴリズムの改良, 日本雪氷学会北海道支部研究発表会, オンライン.
- 15) 木村宏海, 八久保晶弘, 舘山一孝, 谷川朋範. 2020. サロマ湖海氷上の積雪含水率の測定, 雪氷研究大会 (2020・オンライン), 日本雪氷学会・日本雪工学会, 2020 年 11 月 16-18 日.
- 16) 佐藤功坪, 舘山一孝, 渡邊達也. 2020. サロマ湖における UAV を用いた湖氷フリーボードの推定, 雪氷研究大会 (2020・オンライン), 日本雪氷学会・日本雪工学会.

2020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科学的アプローチ	SDGs (2.飢餓、 15.陸上資源)	2,800,000

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・助教	遺伝子同定、アッセイ系確立
	石川 一憲	農学部・教授・農場長	接木効率の調査

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の2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は存在する“接ぎ木不和合性”は園芸生産の台木選定において見極めるべき最重要ポイントとな

っています。

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

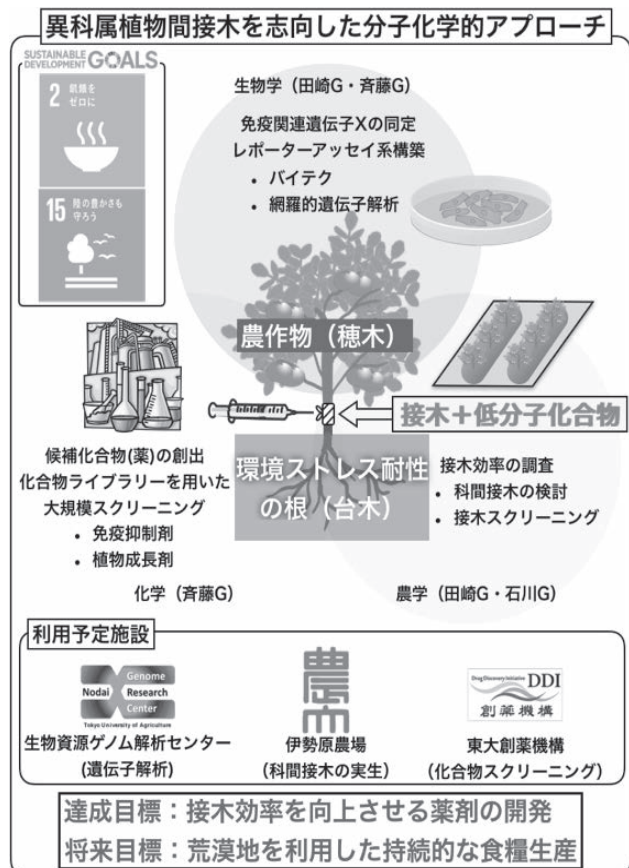
5. 研究目的

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ません。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ます。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す。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すが、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ます。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**を目的とします。本年度は遺伝因子の特定を志向した、① 分類学的な距離と接ぎ木成功率との関係および接ぎ木接合部の形態観察、② 交配後代の作出と後代系統と親系統間における接ぎ木成功率の調査を行いました。

6. 研究（実験）方法

① 分類学的な距離と接ぎ木成功率との関係および接ぎ木接合部の形態観察

接ぎ木に使用する穂木と台木は、遠縁になるほど接ぎ木不和合性を示すとされていますが、その根拠となるデータや報告はありません。そこで前年度確立した最適化した接ぎ木養生条件を用いて、トマトの栽培系統の起源種の1つとされる *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) を接ぎ木の基準系統に用いて、ナス科植物のナス属 (*Solanum*)、トウガラシ属 (*Capsicum*)、ホオズギ属 (*Physalis*)、タバコ属 (*Nicotiana*) を接ぎ木試験に用いました。さらに分類学的距離と接ぎ木成功率との関係を調査する



ため、

(A) *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)/ *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) (穂木/台木;以下同じ)

(B) *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)/ *S. villosum*

(C) *P. philadelphica*/ *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)

(D) 接ぎ木不成立だった *C. annuum*/ *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)

の接ぎ木個体を用いて形態観察を行いました。

② 交配後代の作出と後代系統と親系統間における接ぎ木成功率の調査

野生種トマト *Lycopersicon peruvianum*、*L. pississi*、*L. hirsutum*、*L. chilense*、*L. pimpinellifolium*、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)、*S. pennellii* を用いて交配を行い、交配後代を作出しました。その後 *L. hirsutum* と *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の交配後代 30 系統と親個体 *L. hirsutum* との接ぎ木成功率を調査しました。さらに挿し芽増殖した同株由来のクローンを用いて接ぎ木試験を行いました。

7. 研究成果

① 分類学的な距離と接ぎ木成功率との関係および接ぎ木接合部の形態観察

S. lycopersicum var. *cerasiforme* (Lec) と、同じナス属の近縁系統、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)、*L. peruvianum*、*L. pississi*、*L. hirsutum*、*L. chilense* (= *S. chilense*)、*L. pimpinellifolium* (= *S. pimpinellifolium*)、*S. mammosum*、*S. muricatum*、*S. melongena*、*S. torvum*、*S. nigrum*、および *S. villosum* との接ぎ木試験では、7DAG (days after grafting; 接ぎ木後日数) における生存率は

83.3~100%と高い数値を示し、21DAG における成功率は、41.7~100.0%と幅広い接ぎ木成功率を示

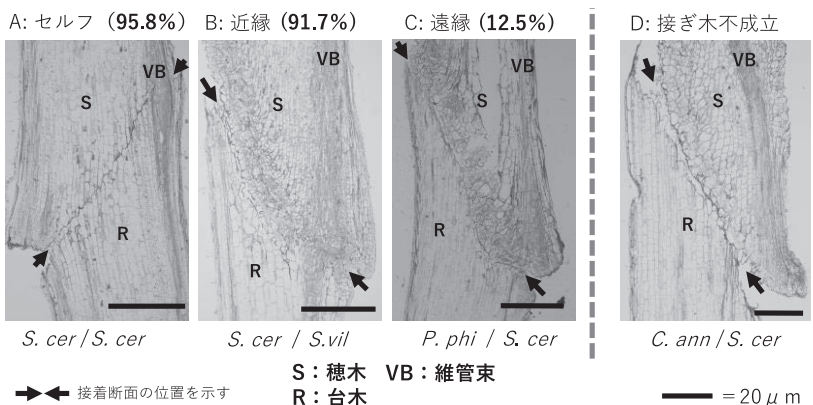
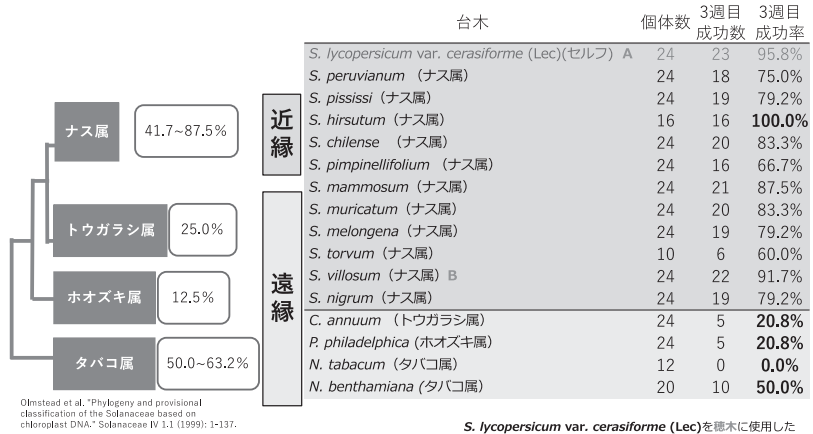
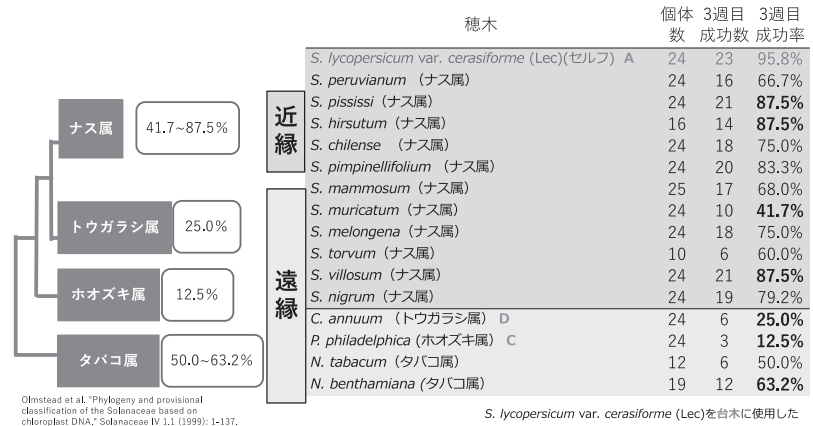


図1. (上) *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) を台木に使用した接ぎ木試験 (中) *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) を穂木に使用した接ぎ木試験 (下) 接着断面の形態観察

しました。*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) と異属の遠縁系統 *C. annuum*, *P. philadelphica*, *N. tabacum*, および *N. benthamiana* との接ぎ木試験では、7 DAG における生存率は 70.8~100.0% と近縁のナス属に比べて幅広い生存率を示しました。*C. annuum* を穂木/台木に用いた接ぎ木の成功率は 14DAG 成功率で 33.3/41.7%、21DAG 成功率で 25.0/20.8% と低い結果となりました。また *P. philadelphica* を穂木/台木に用いた接ぎ木の成功率においても 14DAG で 20.8/29.2%、21DAG で 12.5/20.8% と低く、*N. tabacum* を穂木/台木に用いた接ぎ木の成功率は 14DAG と 21DAG 成功率で 50.0/0.0% と穂木と台木で大きな差が生じました。一方で、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) と最も遠縁の *N. benthamiana* を穂木/台木に用いた接ぎ木は他の遠縁系統の接ぎ木と比較して 63.2/50.0% の高い成功率を示しました(図 1 上、中段)。

接ぎ木接合部の形態観察では、高い接ぎ木成功率を示した *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)/ *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) と、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)/*S. villosum* の接ぎ木組み合わせは、穂木および台木間の接触面において維管束の強い接続が確認されたのに対し、低い接ぎ木成功率を示した *P. philadelphica* / *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の接ぎ木組み合わせは穂木および台木間の接触面において維管束の弱い接続が確認されました。著しく萎れが生じて接ぎ木不成立と判断された *C. annuum*/ *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の接ぎ木では、穂木および台木間の接触面の一部でわずかに細胞の癒合が確認されたものの、接触面の大部分に間隙が生じており維管束の接続は認められませんでした(図 1 下段)。

② 交配後代の作出と後代系統と親系統間における接ぎ木成功率の調査

Lycopersicon hirsutum, *L. pimpinellifolium*, および *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) を花粉親として交配したとき、ほとんどの組み合わせにおいて果実の肥大と種子の形成は認められず、わずかに形成した種子も未熟でした。しかし、*L. hirsutum* を種子親として交配した場合、1 果あたりの種子数が少なく種子の含まれない果実も多かったものの、花粉親の種にかかわらず全ての交配組み合わせで正常に発達した種子が得られました。得られた種子からいくつかを先行して播種したところ正常な発芽とその後の生育が見られたため、厚みが有り、濃褐色の種皮をした正常な種子は発芽能を持っていることが確認されました。*Lycopersicon peruvianum*, *L. pississi*, *L. chilense* を種子親に用いた交配では花粉親は限定されたが、交配が成立する組み合わせにおいては安定して正常な発達の種子が形成されました。*L. hirsutum* × *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) と *L. hirsutum* × *L. pississi* の組み合わせでは交配が成立し、それぞれ 99 粒、35 粒の種子が得られたことから、これら交配後代を接ぎ木不適合性関連因子解析の候補とし、後代系統の作出と親系統間における接ぎ木成功率の調査へと用いました。*L. hirsutum* × *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の交配後代 F₁ 30 個体の中から良好な生育を示した 19 個体を用いて親系統 *L. hirsutum* との接ぎ木試験を行い、F₁ 系統 19 個体と *L. hirsutum* の接ぎ木成功率は 14.3%~100% と系統によりばらつきが認められるため、追試験を実施し今後精査する必要があります(図 2)。

S. hirsutum (hir) × *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (cer) の F₁ 系統 30 系統と親系統の *S. hirsutum* (hir) を正逆で接ぎ木試験した

親系統/交配後代間における接ぎ木成功率				穂木	台木	接ぎ木 試験数	接ぎ木 成功数 (3 WAG ^z)	接ぎ木 成功率 (3 WAG)
穂木	台木	接ぎ木 試験数	接ぎ木 成功数 (3 WAG ^z)					
hir	1	6	4	12	7	7	4	57.1%
1	hir	6	2	12	hir	7	6	85.7%
hir	2	7	1	hir	13	5	4	80.0%
2	hir	7	5	14	hir	7	7	100.0%
hir	4	4	2	hir	16	6	2	33.3%
4	hir	4	1	16	hir	7	4	57.1%
hir	6	5	2	hir	18	7	5	71.4%
6	hir	5	2	18	hir	7	2	28.6%
hir	7	7	4	hir	21	8	5	62.5%
7	hir	7	3	21	hir	8	7	87.5%
hir	8	4	1	hir	23	7	3	42.9%
8	hir	4	1	23	hir	7	2	28.6%
hir	9	4	2	hir	24	6	3	50.0%
9	hir	4	2	24	hir	6	4	66.7%
hir	10	6	4	hir	25	7	6	85.7%
10	hir	6	3	25	hir	7	4	57.1%
hir	11	5	4	hir	30	8	4	50.0%
11	hir	5	4	30	hir	8	7	87.5%

z WAG, week after grafting
hir: *S. hirsutum*

図 2 親系統/交配後代(1~30 系統)間の接ぎ木試験

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

Marshall ら (2001) の報告によると、本試験で用いたトマト野生種は、自家和合性を示す *esculentum* グループ (*L. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)), 自家不和合性を示す *peruvianum* グループ (*L. peruvianum*, *L. pississi*, *L. chilense*)、系統により異なる生殖適合性を示す *hirsutum* グループ (*L. hirsutum*, *S. pennellii*) に分類されます。今回 *L. hirsutum* は自家不和合性であるにも関わらず、*L. pississi* (自家不和合性)、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) (自家和合性) と交配に成功しました。本結果は生殖に関するメカニズム解明において興味深い結果であり、今後品種改良を視野に入れた研究展開を行う予定です。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

作出した交配後代 DNA 解析を行い、接ぎ木の成否に関連する遺伝子の探索を行う予定です。さらに化合物スクリーニングに向けカルス間接ぎ木によるアッセイ系の構築を目指し検討を行う予定です。

10. 公表した成果一覧

なし

2020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	3,500,000

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	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

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

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

5. 研究目的

本研究は、ケニア共和国キツイ郡（Kitui County）およびビヒガ郡（Vihiga County）の農村部（図1）、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。

近年、「栄養障害の二重負荷」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。以上を背景に、本研究では、i)、ii) において研究成果に基づいた関連情報を提示し、住民の態度・行動変容を促す。iii) では生鮮・加工食品のサプライチェーンを構築し、関連情報を付加した場合の購買行動の差異に関する販売実験を行う。



図1. 調査対象地

6. 研究（実験）方法

本研究は、(1) 伝統的農産物の栄養・機能性評価、(2) 農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析、(3) 伝統的農産物のサプライチェーン構築と販売実験、の三つのサブテーマからなる。

本研究の対象地からもわかるように、各サブテーマが連携しながら現地調査を中心に研究を進めていくこととしている。本年度も昨年度と同様に、それぞれのサブテーマが複数回の現地調査を計画していたが、新型コロナウイルス感染症（Coronavirus Disease : COVID-19）の影響により現地調査を行うことができなかった。そのため、本年度はこれまで収集したデータや情報、構築した現地カウンターパートとの連携等を活用し、研究を進めるとともに、次年度に向けた準備を行った。以下、それぞれのサブテーマの研究手法、成果等について概要を示す。

(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ったため、今年度は2019年度に収集したデータを用い、食事の評価方法の検討を行った（図2）。

まず、ケニアにおけるフードピラミッドの活用を検討した。ケニアでは2010年に「臨床栄養リファレンスマニュアル」が示され、食物ベースのフードガイドとしてフードピラミッドが示されている。2017年に「健康的な食事と身体活動のためのガイドライン」、2018年に「食品成分表」と「料理レシピ集」が発表された。しかし、栄養素摂取レベルの評価にはWHOの基準が採用されており、ケニア独自の基準は示されていない。また年齢区分も19歳以上は1区分のみで若者も高齢者も同じ値を用いている。

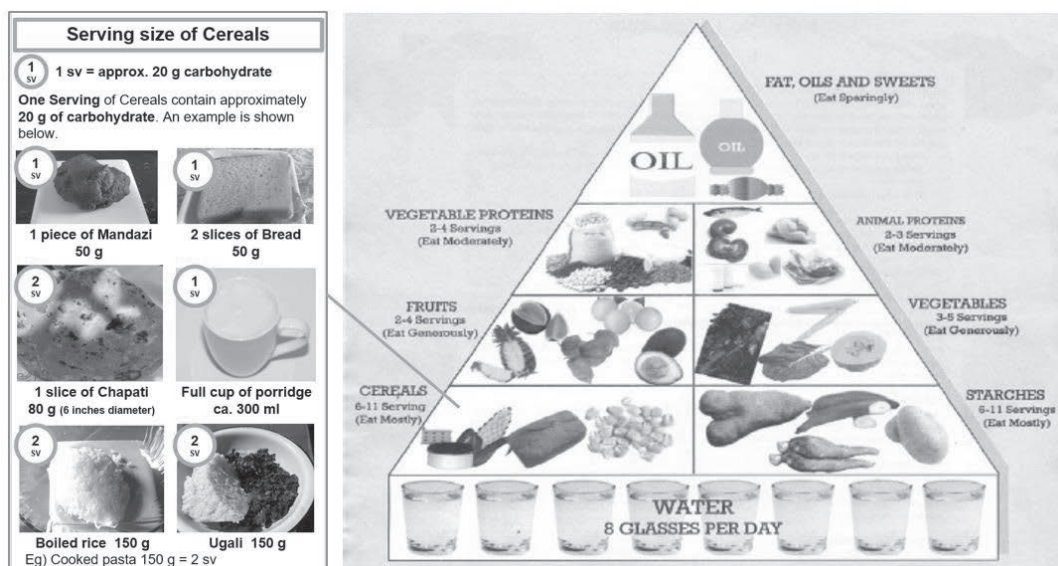


図2. ケニアのフードピラミッドと食事評価の有用性の検証

食事調査の結果を人々にフィードバックする際に栄養素レベルの情報も重要ではあるが、何をどれくらい増減して調節したら良いのかがわかりにくい。これはFAO/WHOが推奨しているツールであり、ケニアで摂取されている食材を組み合わせ、1日あたりにどの食品群からどれくらい摂取すれば良いかを1サービング (SV) あたりの量と個数をイラストで示したものである。しかしながら、1992年に発表されたアメリカのフードピラミッドがモデルとなっており、このフードガイドを遵守することが過不足のリスクの低下につながるのかは不明であった。そこで、過去の食事調査データを当てはめる事により、栄養素摂取状況の評価ツールとしての有用性を検討した。

食事データは、ナイロビ近郊のキアンブ郡 (Kiambu County) にて2019年11月に調査されたものを用いた。トレーニングを受けた現地語のわかる調査員が連続2日間の食事調査を実施し、各料理の量についてはケニアのフードアトラスの写真を示すことによって精度を高める工夫をした。マニュアル上では食品群ごとに各食品のサービングサイズが示されていたが、基準について定義が定かでなかった。そこで、日本の食事バランスガイドを参考に食品群の特徴ごとに1SVあたりの食品重量の定義づけをして整理することとした。その後、成人男女の摂取した食事内容についてSV数に換算した。ケニア政府の示す基準値に対して摂取SV数が達していれば10点、基準値から遠ざかるに従い0点に近づくよう点数化し、5つの群であったことから合計50点満点でフードピラミッド遵守スコア (以下、FPスコア) として算出し、これを3分位にした際の各栄養素の摂取状況について比較した。栄養計算は、ケニアの成分表の値を日本の計算ソフトに組み込むことで実施した。さらに、この地域における荷重平均成分表を作成し、FPスコアを遵守した際の栄養素等供給量を算出し、各栄養素の過不足について推測することにより、フードピラミッドにより食事を評価することの有用性について検討した。

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

本サブテーマは、現地調査による遺伝資源利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

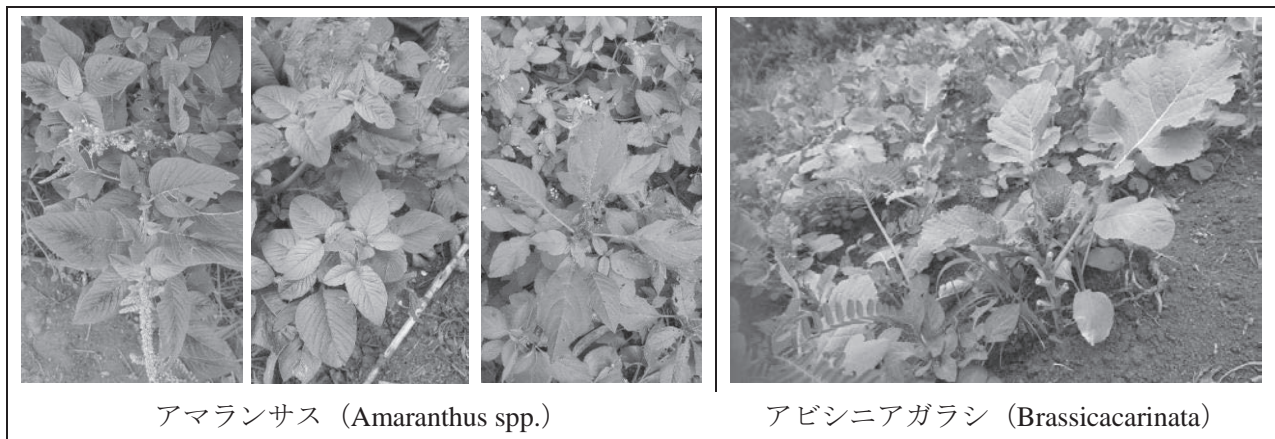


図3. アマランサス (Amaranthus spp.) の収集とアビシニアガラシ (Brassicacarinata) の栽培状況の確認

(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した。

まず、遺伝資源利用については、昨年度、二度に亘り実施した農業多様性調査に基づき、ビヒガ郡内 20 村・161 世帯の遺伝資源利用の状況と、ビヒガ郡およびキツイ郡にてアマランサス、アビシニアガラシ遺伝資源の探索収集を行った (図 3)。ビヒガ郡における遺伝資源利用に関する調査では、自給用としてホームガーデンで栽培している作物の種類、現地語名、品種、収穫可能期間等を聞き取りにて行った。またビヒガ郡、キツイ郡でのアマランサスの探索では 8 種 90 サンプルを収集した。

家計調査による社会経済指標に関しては、昨年度実施した予備的調査、および現地協力機関 (Bioversity International) が実施した家計調査 (本研究の対象予定村落・家計を含む) の Data を用いて、キツイ郡を対象とした分析を行った。特に、予備的調査から家計の人員の構成が、労働投入の可能性を通じ、農業の実施可能性や副業による所得源の多様化の可能性に影響していることが観察されたことから、家計内の人員の構成から消費力指数 (C)、労働力指数 (W) を算出し、さらに世帯農業生産量 (所有耕地面積、または経営耕地面積で代替) を算出し、それぞれの比をとることにより家計内の消費力と労働力の関係を家計間で比較した。これは、「チャヤーノフ法則」の検証に用いられる方法である。消費力指数の労働力指数に対する比率 (CW 比率: 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量、すなわち家計内の労働力の労働負担と解釈される。農業生産量または耕作面積の労働力に対する比率 (PW 比率: P/W) は、単位労働力あたりの農業生産量または耕作面積、すなわち、より直接的に農業労働に関する家計内の労働力の労働負担を示す。農業生産量または耕作面積の消費力量に対する比率 (PC 比率: P/C) は、単位消費力あたりの農業生産量、すなわち農業生産の消費水準への貢献と解釈される。これらの指標を用い、約 300 戸の家計調査のデータを分析した。

また以上の調査・分析結果に基づき次年度の調査用の質問紙を作成した。作成にあたって現地協力機関と緊密に連携し、スマートフォンやタブレット端末用のアプリケーションを用いた質問紙を設計した。本質問紙は、本研究における利用のみでなく、将来的に関連する調査に継続的に利用していくことを想定している。

(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つたため、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

フードピラミッドの1SVあたりの食品重量については、ケニア政府の提示した内容に合わせたが、2018年の食品成分表の値との整合性から整理し、穀類・いも類といった炭水化物を多く含む食品群は炭水化物約20g含むものを1SVとした(日本では穀類の炭水化物40gで1SV)。たんぱく質の多い食品は動物性(肉類、魚類、卵)と植物性(豆類)に分類され、たんぱく質約6g含むものを1SVとした。同様に、牛乳・乳製品はカルシウム約300mg相当の食品重量を1SV(日本では200mgで1SV)、野菜は緑色葉野菜とその他の野菜とし、80gを1SV(日本では70g)、果物は200gを1SVとした。

FPスコアの集団における得点は、平均25点であった。FPスコアを3分位にして比較したところ、スコアが高くなるに従って、各栄養素の摂取状況が有意に高値を示す傾向がみられたが、体格や血圧との関連性は認められなかった。

集団からやせと肥満(BMI 30以上)を除外し、FPスコアを遵守した際の栄養素等供給状況を検討したところ、ほとんどの栄養素の不足のリスクは回避出来ることが示されたが、主に脂質とナトリウムについて過剰のリスクが懸念され、今後の検討課題と考えられた。

(2) 農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析

ビヒガ郡において農業多様性調査の対象となった161軒では、作物55種、品目1887点の作物が栽培されていた。栽培植物を9つのグループに分類したところ、葉菜類(40%)と果物類(20%)の割合が大きかった。主食のウガリ(粉末にしたトウモロコシなどの穀類を練ったもの)は、当地域では粉末にしたトウモロコシのみを用いる傾向にあるため、他の穀類はほとんど栽培されていなかった。各村の作物種の出現頻度は19から30で、総品目数に対する多様度指数は3.9034から4.5827であった。本調査では6村が対象となったが、そのうちA村、B村、C村、D村では、種数、総品目数、多様度指数の3項目すべてが高かった。次に類似性について分析したところ、E村は種数と総個体数の両項目において最も低い値を示した。E村は他と離れた岩山のある、起伏激しい地形であるため、栽培可能な土地が限られるだけでなく、サルによる食害も多く、作物種が限定されてしまい多様度指数が低いと考えられる。またF村はマーケットに行くための交通手段(乗合バス、バイクタクシー)が利用しやすい舗装された道路の近くに位置する。またマーケットに行かなくても道路沿いで食料を売っているため、食料を手に入れやすく、多くの作物種を栽培する必要がないのではないかと考えられる。

次に、世帯内の労働配分に関して、CW比率とPC比率(CW-PC)の相関とCW比率とPW比率(CW-PW)

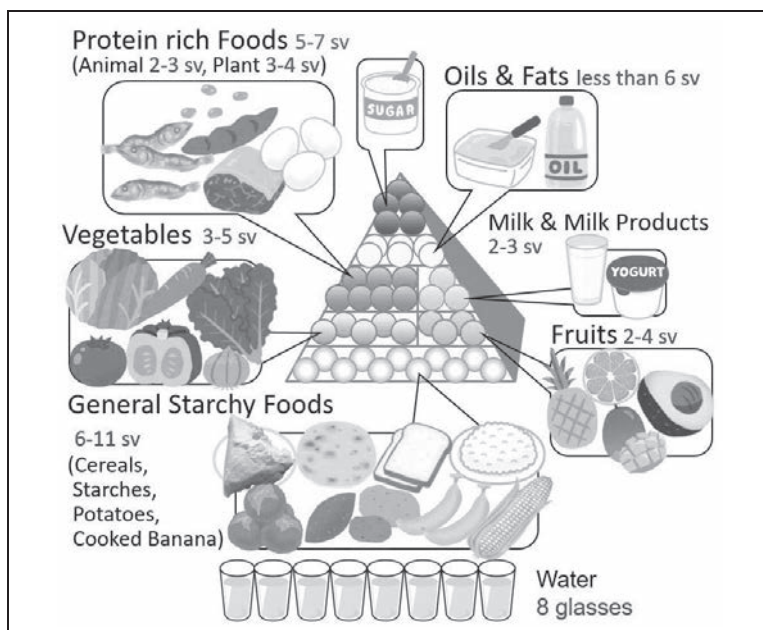


図4. ケニアのフードピラミッドの見える化

の相関関係について分析した(図5・6)。通常CW-PCは負の相関関係を示す。すなわち同一の消費力(C)をもつ家計を比較した場合、より多くの労働力をもつ家計(CW値が小さい家計)のほうが労働力間(家計内で労働に従事できる者)の協力による成果が大きいため、より大きな生産量を得ることでより高い消費水準(PC値が大きい)を達成することができる。これによりCW-PCの負の相関関係がみられる。これは本分析でも確認された。次に、CW-PWは、正、負両方の相関関係を示すことが考えられる。同一の労働力をもつ家計を比較すると、より多くの消費力をもつ家計(CW値が大きい家計)は、労働強度の上昇(家計内の労働に従事可能な世帯員が増える)により、より大きい農業生産(より大きいPW値)を得る。この場合、CW-PWは正の相関を示す。家計が扶養圧力、すなわちCの上昇に直面する場合、二つの選択肢がある。すなわち農業生産、あるいは耕地面積の増大による対応と労働可能な世帯員の農外収入への従事である。前者はもちろんのこと、後者による対応であっても家計として農業生産を主とする場合、CW-PWは正の相関を維持することとなる。しかし、農外収入あるいは常雇用農業労働から得られる収入が主になる場合、CW-PWは負の相関を示すこととなる。本研究の対象地では、世帯員の農外収入が増加していることが観察されるが、CW-PW値を求めると正の相関を示している。すなわち、農外収入を得る機会は増加しているものの、家計は、依然として世帯員を農業に従事するように振り分けることが主であることがわかる。世帯員の労働の配分は家計としての生存戦略を示すとともに、特に母親の時間配分に影響を与え、それが世帯員の食料・栄養摂取に影響を与えとされる。

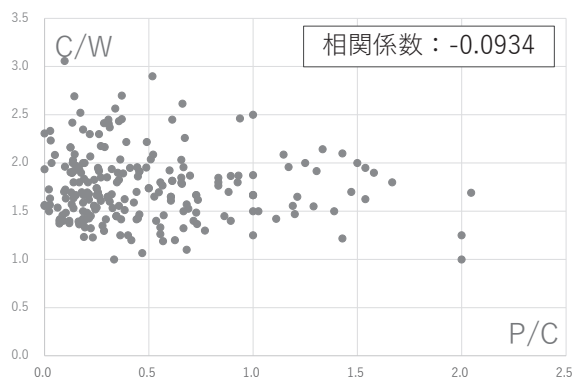


図5. C/W-P/C比率

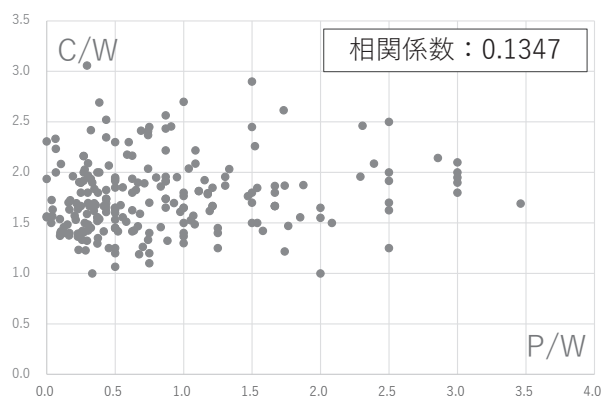


図6. C/W-P/W比率

(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

(1) 伝統的農産物の栄養・機能性評価

フードピラミッドを用いて食事を評価することは、栄養素の摂取不足の回避には有用であることが示された。食事調査結果を対象者にフィードバックする際に使えるよう、視覚的にわかりやすい教材を作成した。

(2) 農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析

現在、着手中であるが、ビヒガおよびキツイにて探索収集したアマランサス遺伝資源に関して、現地にて凍結乾燥のうえ日本に輸送し、ゲノムサイズの解析による同定、DNA 多様性解析、栄養成分・機能成分の分析を行う。これらは現地協力機関にも提供され、家計の栄養状態や遺伝資源の多様性の維持を考慮した農業生産体系の提案に利用される。また、作成されたスマートフォンやタブレット端末用のアプリケーションを用いた質問紙は、本研究における利用のみでなく、将来的に関連する調査に継続的に利用される予定である。

(3) 伝統的農産物のサプライチェーン構築と販売実験

現地協力機関と協力し、現地住民の協力の下試作して電気パンについてのプロモーションビデオを作成した。今後、(1)、(2)の調査結果を踏まえ、現地の状況に相当であることが確かめられた場合、本プロモーションビデオの利用が想定される。

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

本研究により、フードピラミッドによる食事の評価は過剰のリスクの回避には課題があることが示唆された。調査地域は不足のリスクだけでなく、過剰摂取や生活習慣病のリスクも抱えていることから、料理に使用する脂質や食塩を減らす工夫を伝える事の必要性が考えられた。

(2) 農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析

実際の食事により得られる栄養成分とそれを補い得る遺伝資源の関係性を明らかにする必要があると考えられる。現在、現地食品 10 レシピの栄養成分(粗タンパク質, Vitamin C, α , β carotene, Na, K, Ca, Mg, P and Fe) および機能成分の解析を行っているところであり、今後、両者の関係を踏まえた農業生産を含む遺伝資源利用のあり方を提示する。

農外収入機会の増大により、家計としての生存戦略が急速に変化していることが推察される。これは母親の調理等に配分する時間への影響が考えられ、これらを踏まえた食料・栄養摂取の提案が必要となる。今後、これら家計の生存戦略と食料・栄養摂取の関係を把握する社会経済調査を実施する。

(3) 伝統的農産物のサプライチェーン構築と販売実験

(1)、(2)、特に(2)で明らかとなる母親の調理等への時間配分を踏まえた、伝統的農産物を利用した食品の提案が必要となる。これを考慮した試作品の作成を実施する。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) 木住野円華 (2020)「ケニア都市近郊在住の農業従事者におけるフードピラミッドを用いた食事評価の有用性の検討」東京農業大学応用生物科学研究科修士論文
- 2) 松田浩敬・森元泰之 (2020)「自然資源－農業－栄養－健康の連関と持続可能な社会」アグリバイオ, 4(9): 67-70.

2020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	2,800,000

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	陸生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	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	昆虫多様性評価
	松林 尚志	農学部 生物資源開発学科・教授	野生動物インベントリー
	佐々木 剛	農学部 生物資源開発学科・教授	動物多様性評価
	石川 忠	農学部 生物資源開発学科・教授	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	植物多様性評価
	松嶋 賢一	農学部 生物資源開発学科・教授	雑草インベントリー

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の2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、島嶼部の農地生態系に着目した生物多様性調査は、害虫とその天敵を対象としたもの以外行なわれていなかった。

5. 研究目的

これまで未解明であった島嶼部（ここでは南西諸島）の農地生態系における生物多様性の解明を目指すとともに、その保全のための基礎データを蓄積し、「生物多様性管理」と「農村ランドスケープ設計」の視点から、持続可能な農地生態系モデルを提案する。

6. 研究（実験）方法

・生物多様性のホットスポットとされる南西諸島のうち、世界自然遺産候補地でもあり、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。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（図1）。

- ・「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（写真左：干立地区の環境保全型農地；右：白浜地区の生産効率型農地）

7. 研究成果

7-1. 植物

西表島における農法が異なる水田の植物多様性とその保全

・西表島における農法が異なる水田の調査で、これまでに計120種の植物を確認した。その内訳は、環境保全型農地で99種（希少種15種；帰化種15種）、生産効率型農地では37種（希少種4種；帰化種13種）であった。希少種（計17種）は、リュウキュウコザクラを除き湿地性植物で、その多くは環境省、沖縄県、竹富町指定の絶滅危惧種で、環境保全型農地が希少植物群の生育する重要な環境であることが明らかとなった（図2；表1；学会発表：2）。また、生産効率型農地でも、環境保全型農地では見られなかった希少種が2種確認された。

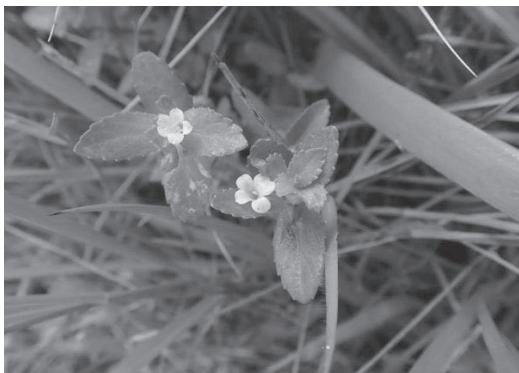


図2. 国内では西表島の湿地にのみ見られるエナシシクサ

・西表島の環境保全型農地は、土地改良による乾田化が行われておらず、湧水により湿田が維持されている。今後も湧水源の森林を保全し、湿性環境を維持していくことが重要である。また、耕作を継続することで植物遷移を抑制することも重要で、休耕地の定期的な管理を行う必要がある。

表 1. 西表島の水田で確認された希少植物

科名	和名	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	ナンゴクデンジソウ		●	IB		◎
トチカガミ科	マルミスブタ	●		II	II	◎
タヌキアヤメ科	タヌキアヤメ	●			II	◎
ホシクサ科	スイシャホシクサ	●	●	IB	IB	
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	◎
	トクサイ	●			II	◎
	ハナシテンツキ	●		IB	IB	◎
	クロタマガヤツリ	●			IB	◎
サクラソウ科	リュウキュウコザクラ		●			◎
オオバコ科	エナシシソクサ	●		IB	II	◎
	シソクサ	●		II	II	◎
ハエドクソウ科	スズメノハコベ	●		II	II	◎
タヌキモ科	ミカワタヌキモ	●		II	II	◎
ミツガシワ科	ヒメシロアサザ*	●				
ホシクサ科	オオシラタマホシクサ*	●	●			
カヤツリグサ科	ヒロハクロタマガヤツリ*	●				

*：分布・生育が少ない種；IB：絶滅危惧 IB 類；II：絶滅危惧 II 類

圃場整備の有無が水田雑草に及ぼす影響

・西表島および石垣島の水田（計 67 箇所）において、圃場整備の有無が植物相（水田雑草）に及ぼす影響を調査し、このうち水田雑草の確認された 57 箇所 で植生データを得た。各調査地点について、衛星画像と空中写真のアーカイブデータから、1960 年以降の圃場整備事業の実施の有無、実施された場合にはその年代、さらに現在の圃場の面積を把握した。また、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。

・圃場未整備水田に特徴的な指標生物候補（未整備水田では出現頻度が高いが、圃場整備が実施されると姿を消す種）として、イヌホタルイ、コアゼガヤツリ、シソクサ、カンガレイが確認された。

・絶滅危惧種の生育する水田は、圃場未整備水田にほぼ限定された。ただし、ミズワラビ、スズメハコベが一部の圃場整備水田に出現した。

・圃場未整備水田の調査区画 5m²あたりの出現種数は、圃場未整備の区画と比べて有意に多かった。このうち西表島のデータについては、学会発表した（学会発表：1）。

・各調査地点について、衛星画像と空中写真のアーカイブデータから、1960 年以降の圃場整備事業の実施の有無、実施された場合にはその年代、さらに現在の圃場の面積を把握した。また、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が、整備が実施された時期が種組成や出現種数に及ぼす影響は不明瞭だった。

7-2. 昆虫・クモ

水生・湿性カメムシ類

- ・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、計26種のカメムシ類を確認した。種数は生産効率型農地より環境保全型農地で多かった（26種 vs 4種；表2）。
- ・環境保全型農地の水生・湿地性カメムシのうち、1種（ツヤミズムシ；図3）が今年度の調査で新たに追加された。



図3. 希少種のツヤミズムシ

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 干立・大浜農園	生産効率型 白浜
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	●	
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	●	
ミズムシ科	ツヤミズムシ	●	
	エサキコミズムシ	●	●
	ミヅナシミズムシ	●	
	ケチビミズムシ	●	
	ハイイロチビミズムシ	●	●
メミズムシ科	メミズムシ	●	
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	●	
マルミズムシ科	マルミズムシ	●	
ミズギワカメムシ科	トゲミズギワカメムシ	●	
サシガメ科	キベリコムシアシサシガメ	●	
	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	●	

- ・生産効率型農地から確認された4種のカメムシは、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。
- ・環境保全型農地では、希少種のミゾナシズムシやツヤミズムシが生息していた。
- ・有機栽培水田の水源となる近傍の水域（溪流やヌタ場など）で水生カメムシ類を対象として調査を行い、8種の水生カメムシ類が確認された（表3）。このうち、ケシカタビロアメンボ科の日本未記録属の一種が、今年度の調査で新たに確認された。また、イリオモテケシカタビロアメンボ、モリモトケシカタビロアメンボ、ウエノケシカタビロアメンボは、源流域のみに生息する希少種であるため、有機水田の周囲の環境はよく保たれていると考えられる。

表3. 西表島の環境保全型水田の水源となる近傍の水域で確認された水生カメムシ類

科名	種名	備考
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	
	カスリケシカタビロアメンボ	
	イリオモテケシカタビロアメンボ	源流域にのみ生息，希種
	モリモトケシカタビロアメンボ	源流域にのみ生息，希種
	ウエノケシカタビロアメンボ	源流域にのみ生息，希種
	タカラナガレカタビロアメンボ	
	日本未記録属の一種	

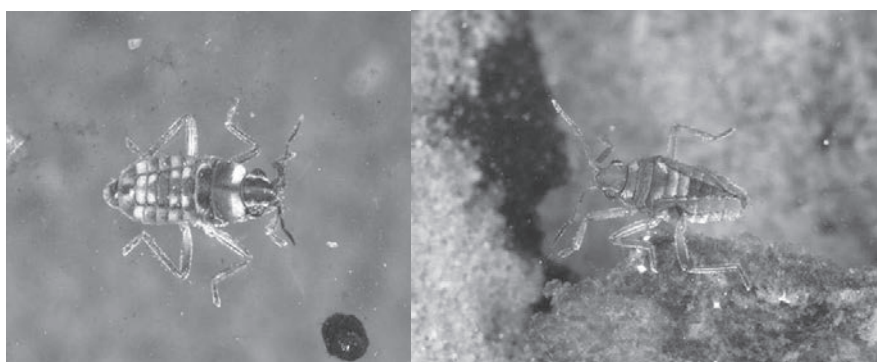


図4. 希少種のモリモトケシカタビロアメンボ（写真左）とウエノケシカタビロアメンボ（写真右）

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32種のチョウ類および計14種のトンボ類を確認した。チョウ・トンボ類ともに、西表島では石垣島より種数が多かった。チョウ類（27種 vs 13種）、トンボ類（13種 vs 5種）。
- ・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、農地に依存する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13種（41%）、樹林+農地性が10種（31%）であった（表4）。
- ・西表島では、希少種のチョウ類が確認された。マサキウラナミジャノメとシロオビヒカゲ（タテハチョウ科）は、環境省レッドリストの準絶滅危惧種に指定されている。このうち、マサキウラナミジャノメは、西表島・石垣島の固有種で樹林+農地性種であり、環境保全型農地における指標種候補になりうると考えられた。

表 4. 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
		千立地区	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
	クロボシセセリ				●	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
	ヤエヤマカラスアゲハ	●	●			2
	アオスジアゲハ	●	●		●	3
シロチョウ科						
	ミナミキチョウ	●	●	●	●	3
	ウスキシロチョウ	●	●			1
	ツマベニチョウ	●	●			3
シジミチョウ科						
	ウラギンシジミ		●			3
	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
	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
	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
	ヤエヤマムラサキ	●				2
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
	ツمامラサキマダラ	●	●			3
ジャノメチョウ亜科						
	マサキウラナミジャノメ*	●	●			3
	シロオビヒカゲ*		●			2
	リュウキュウヒメジャノメ	●	●		●	2
種数		22	20	7	11	

*：準絶滅危惧種（環境省）；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

水生甲虫類

・西表島の環境保全型農地で、計 21 種のゲンゴロウ、ガムシ類を確認した。絶滅危惧 IIB 類のオキナワスジゲンゴロウをはじめ、7 種の希少種を含んでいた。

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、各島の農地生態系とその周辺環境において調査を実施し、西表島から 144 種、石垣島から 170 種、宮古島から 43 種の生息を確認した。日本新記録種を含む、多数の分布新記録種や生態的知見が乏しい希種を確認し、学術雑誌に報告した（図 5、6；学術論文：1、2、5、8、9、12、13）。

・水田雑草に依存しているリュウキュウチビゾウムシ、ハスオビチビゾウムシ（寄主植物：アカバナ科やミソハギ科）、カギアシゾウムシ（スイレン科?）、リュウキュウカギアシゾウムシ（オモダカ科）、オオミズゾウムシ（ミズアオイ科）は、除草剤の使われている水田では見られず、環境保全型農地の指標候補種となりえる。また、従来、イネの重要害虫とされていたイネゾウムシやヒメイネゾウムシは、近年の育苗箱施用剤などの農薬の影響で激減していた。



図 5. 西表島で新たに生息が確認されたヒメイカリゾウムシ（小島，2020）

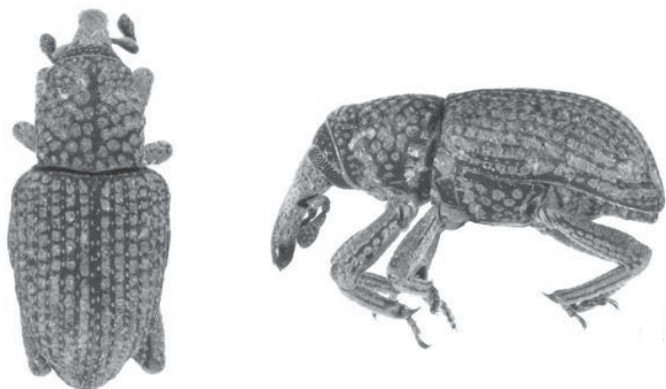


図 6. 宮古島から見つかった日本新記録種のヨリメムツヒゲキクイサビゾウムシ（Kojima & Fujisawa, 2020）

クモ類

・クモ類のサンプルは同定中であるが、西表島で記録の少ないコサラグモ類（サラグモ科）を多く含むことから、西表島未記録・日本未記録・未記載種を含む可能性がある。

7-3. 動物

両生・爬虫類

・西表島ならび石垣島の農地生態系（おもに水田；計6ヶ所）において、ヤエヤマイシガメ・サキシマカナヘビ（ともに絶滅危惧種II類）、サキシマキノボリトカゲ・イシガキトカゲ（ともに準絶滅危惧種）をはじめとする八重山諸島固有種を含む、計22種の両生・爬虫類が確認された（表5）。その大半がおもに森林を生息環境とする種で、とくに森林に隣接する西表島の水田においては、農地が自然湿地の代替地として機能していることを確認した。

・石垣島の生産効率型農地と西表島の環境保全型農地の比較では、種数に大差は見られなかったが、その内訳を見ると石垣島の水田では全体の4割を外来種が占めていた（図7）。

・西表島の水田では、絶滅危惧種II類のヤエヤマハラブチガエルが確認された（図8）。

・西表島では今のところ外来種の定着は1種しか確認されていないが、石垣島では5種の外来種が確認されていて、固有種が多く生息する地域でもあることから、今後、保全を考える上で、西表島においては外来種の侵入を防ぎ、石垣島においては外来種を減らす対策を講じる必要がある。

表5. 石垣島，西表島の農地生態系から確認された両生・爬虫類

分類群	種名	生息環境	外来種	環境省
カエル	オオヒキガエル	森林性	○	
	ヤエヤマハラブチガエル	森林性		II
	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
	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		
	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		
	ヤエヤマヒバア	森林性		
	サキシマハブ	森林性		

II: 絶滅危惧II類；NT: 準絶滅危惧種。

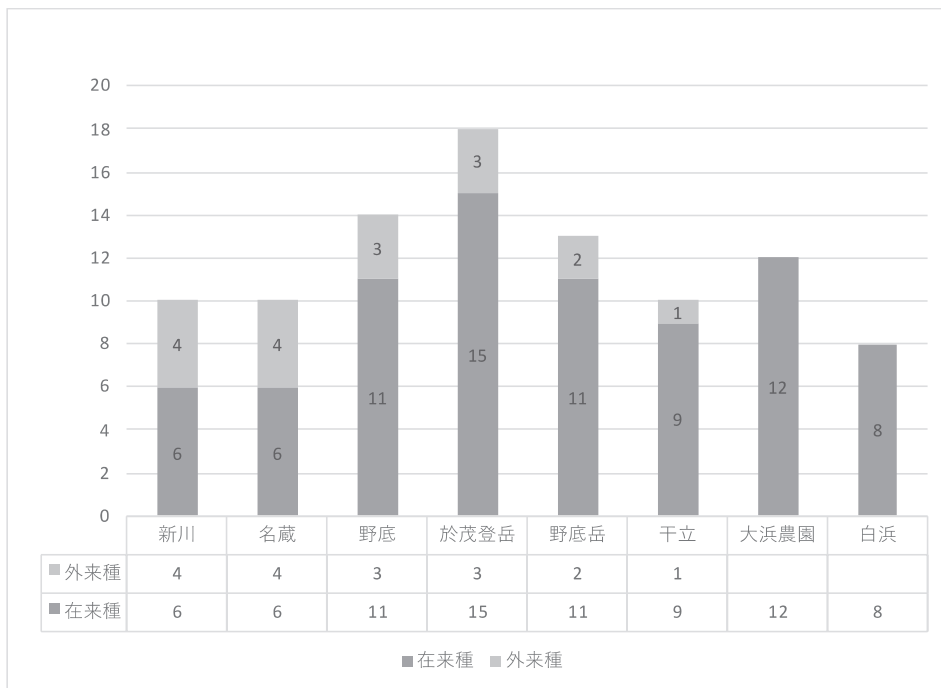


図 7. 石垣島、西表島の農地生態系（6ヶ所）ならびに自然生態系（2ヶ所）の各調査地で確認された両生・爬虫類の在来種と外来種の種数. 生産効率型農地（石垣島：新川，名蔵，野底；西表島：白浜），環境保全型農地（西表島：干立，大浜農園）；自然生態系（石垣島：於茂登岳，野底岳）



図 8. 西表島の水田で確認されたヤエヤマハラブチガエル

哺乳類

・西表島における獣害の実態を把握する目的で、農地とその周辺でのイリオモテヤマネコならびにリュウキュウイノシシを対象とした調査を実施し、ヤマネコの地元有機栽培農園への侵入ならびに、ニワトリ被害を確認した。農場内の鶏舎への訪問頻度は2日に1回で、訪問時間のピークは3:00~5:00であった。

・近年、イノシシによる農業被害が、パイナップルやイネ、サトウキビ、イモ類を中心に増加していて、その生態、行動、個体間関係、異種間関係を調べる目的で、農地周辺に存在するイノシシのヌタ場を調査地として設定した。これまでにイノシシのほか、ヤマネコもヌタ場周辺環境を利用していることを確認した。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

西表島をはじめとする自然度の高い島々のみならず、農地開発の進んだ宮古島などの南西諸島における農地生態系とその周辺の調査で、新種や新記録種、希少種の昆虫類が見つかっており、昆虫分類学上の成果として報告した（学術論文：1~3、5~15）。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

- ・未調査時期や生産効率型農地での調査回数を増やす（西表島、石垣島）。
- ・植物や昆虫、両生・爬虫類で指標種、保全対象種の候補が絞られてきたので、それらの種を対象に、生態的特性や生息環境条件（栽培管理、周辺景観など）との関係を調査・解析する。
- ・上記調査を通じ、八重山諸島の島嶼部農地生態系における生物多様性の実態を把握し、「生物多様性管理」や「農地ランドスケープ設計」の視点から、持続可能な農地生態系の保全策を提言する。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) 小島弘昭, 2020. リュウキュウアシブトゾウムシ (甲虫目ゾウムシ科) の寄主植物について. *Sayabane, new series*, (40): 36-37.
- 2) 吉武 啓・源河正明・小島弘昭, 2020. 日本初記録のシナガワハギコガタゾウムシ (和名新称) Tychius (Tychius) breviusculus Desbrochers des Loges (ゾウムシ科ゾウムシ亜科コガタゾウムシ族). *Sayabane, new series*, (40): 21-24.
- 3) 瀬戸山知佳・小島弘昭・浅野 真, 2020. 宮古諸島大神島からのトカライソジョウカイモドキの記録. *Sayabane, new series*, (40): 24-25.
- 4) 小島弘昭・藤沢侑典, 2020. トカラ列島のゾウムシ相. *昆虫と自然*, 55(8): 13-16.
- 5) Kojima, H., S. Furuhashi, H. Yoshitake & F. Miyamoto, 2020. Weevils (Coleoptera, Curculionoidea) associated with ferns in Japan. *Elytra, new series*, 10: 5-18.
- 6) 小島弘昭・宮本 太, 2020. 薩摩黒島におけるクニヨシシロオビゾウムシ (甲虫目オサゾウムシ科) の分布記録と生態的知見. *Sayabane, new series*, (38): 29-31.
- 7) 小島弘昭・佐伯智哉, 2020. 屋久島におけるサカグチクチブトゾウムシの加害植物記録. *Sayabane, new series*, (38): 41-42.
- 8) 小島弘昭・関東準之助・吉武 啓, 2020. 西表島からのヒメイカリゾウムシの記録と擬死行動. *Sayabane, new series*, (38): 40-41.
- 9) 加藤大樹・小島弘昭, 2020. 西表島からのコブアナアキゾウムシの記録. *Sayabane, new series*, (38): 36-37.
- 10) 嶋本習介・小島弘昭・長野宏紀, 2020. 薩摩黒島からの水生甲虫 5 種の記録. *Sayabane, new series*, (38): 38-40.
- 11) 小島弘昭, 2020. 口永良部島からのヒゲブトシギゾウムシの記録. *Sayabane, new series*, (38): 38.
- 12) Kojima, H. & H. Yoshitake, 2020. Four curculionid-beetles (Coleoptera) new to the fauna of the Miyako Islands, the Ryukyus, Japan. *Nodai Entomology*, (2): 14-18.
- 13) Kojima, H. & Y. Fujisawa, 2020. First record of Allaotenes niger He, Zhang and Pelsue (Coleoptera, Dryophthoridae, Stromboscerinae) from Japan. *Nodai Entomology*, (2): 10-13.

- 14) Kojima, H., 2020. A new synonymy of the molytine weevil genus Seleuca Pascoe (Coleoptera, Curculionidae). *Nodai Entomology*, (2): 8-9.
- 15) Kojima, H., 2020. Occurrence of the banana stem weevil, Odoiporus longicollis (Olivier) (Coleoptera, Dryophthoridae) from mainland Kyushu, Japan. *Nodai Entomology*, (2): 5-7.
- 16) Murata, K. & K. Tanaka, 2020. Insecticide susceptibilities of Hydrometra species (Hemiptera: Hydrometridae), including an endangered species, inhabiting paddy fields in Japan. *Applied Entomology and Zoology*, 55: 395-403.
- 17) Miura, N., S. Yamada & Y. Niwa, 2020. Estimation of canopy height and biomass of Miscanthus sinensis in semi-natural grassland using time-series UAV data. *ISPRS Annals of the Photogrammetry, Remote Sensing & Spatial Information Sciences*, V-3: 497-503.
- 18) Matsuoka, T., K. Tsuchiya, S. Yamada, J. Lundholm & T. Okuro, 2020. The effects of growth form on the impact of companion planting of nectar-producing plant species with Sedum album for extensive green roofs. *Urban Forestry & Urban Greening*, 56: e126875.
- 19) Yamada, S., M. Nemoto & T. Okuro, 2021. Season and plant life history stage in revegetation influence competition of foundation species, subordinate species, and weeds in a reclaimed grassland. *Ecological Engineering*, 162: e106178.
- 20) 丹羽悠二・三浦直子・山田 晋・根本正之, 2021. 高解像度で撮影した UAV データを用いたスキのバイオマスの推定. *ランドスケープ研究技術報告*, 11: 154-157.
- 21) 山田 晋・三井裕樹・高岸 慧・宮本 太, 2021. コナラ二次林林縁のアズマネザサ群落の単年刈り取りが翌年の植物種多様性に及ぼす影響. *ランドスケープ研究*, 84: 693-698.
- 22) Okuyama, K., Y. Sakuma & T. Sasaki, 2021. Post-ovipositional developmental stages of the Japanese Grass lizard, Takydromus tachydromoides (Squamata: Lacertidae). *Current Herpetology*, 40: 66-76.

その他：学会発表

- 1) 山田 晋・宮本 太・高岸 慧, 2020. 西表島において水稻非栽培期の圃場整備および未整備水田に出現する植物種の差異. 日本雑草学会第 59 回大会, 信州大学.
- 2) 高岸 慧・宮本 太・内貴章世, 2021. 溪流環境に生息するオオシラタマホシクサの生態. 日本生態学会第 68 回大会, 岡山

2020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性品種を活用した持続的農業技術の開発	持続的農業	2,500,000

2. 研究組織

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

3. 研究期間

2020年4月1日～2021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。

5. 研究目的

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

課題 1) モンゴルにおける土壤保全技術の評価：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、土壤有機物と土壤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壤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、一般的な土壤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壤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。

6. 研究(実験)方法

課題 1) 土壤保全技術の実証試験(ダルハン県 IPAS 附属農場)

1) 現地における圃場試験の概要

圃場試験により、モンゴルにおいて開発された土壤保全技術である、植物残渣(刈り株)により土壤表面を被覆し、土壤保全を行う処理(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、コムギ作付けを行った。処理区の状況を図 1 に示した。

A) 従来型の栽培(control 区)

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

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

2) 研究のゴール：

以上の試験により、土壤保全技術適用による作物の生育・収量および土壤の化学性、物理性的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壤保全技術を確立する。



図 1 ダルハン IPAS 圃場試験区の概要。中央より左が straw-mulch 区、右が control 区(2019 年)



図2 ダルハン IPAS 圃場試験区における土壌調査の様子。

課題2) 分析技術の現地移転：

- 1) 土壌採取、分析：上記試験圃場の表層土壌0～10cmを3-5地点から採取する。土壌の物理特性として、ち密度および比重を測定する。土壌の化学性としてpH、EC、硝酸イオン濃度、可給態リン酸量および交換性陽イオン組成を測定する。
- 2) 研究のゴール：以上の分析を全て、Altansuvd 博士のMULS 土壌研究室において行うことのできる体制を整える。現地の分析技術改良に寄与するとともに、次世代の研究者を育成する。

課題3) 耐乾燥性品種の形質評価試験（ダルハン県 IPAS 附属農場）

1) 耐乾燥性品種の形質評価試験の概要

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

2) 根系の発達特性の現地評価

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

3) 地上部発達（草型）の現地評価

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

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

7. 研究成果

1) 土壌分析結果について

2019年5月より、ダルハン県 IPAS 附属農場において、上記の土壌保全技術実証試験の第一回目を

行い、10月に現地圃場にて土壌採取を行った(図2)。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)と無処理区(control)とで土壌の性質を比較し、土壌保全技術の評価を行った。MULSにおいて土壌試料の分析を行った結果、土壌物理性について、土壌水分量の保持、仮比重の減少などの物理性改善効果については、土壌水分、土壌仮比重ともに、植物残渣処理区と無処理区との間に差がみられず、期待していたように土壌保全処理による水分の保持、土壌を軽くする等の物理性改善効果は認められなかった(表1)。一方、土壌の化学性については、腐植(humus)含量、交換性Ca、可給態リン含量などは植物残渣処理により増加し、植物養分環境は改善した(表2)。こうした評価が現地で行えるようになり、課題1)土壌保全技術の実証試験、および課題2)分析技術の現地移転については順調に進行中である。

表1 土壌保全(Straw mulch)処理および対照区(Control)土壌の物理性*

	Straw mulch	Control
土壌水分含量 (g/100cm ³)	12.93	13.77
SD	5.41	7.97
容積重(g/cm ³)	1.38	1.32
SD	0.11	0.03

*数値は3反復の平均値, SDは標準偏差を示す.

表2 土壌保全(Straw mulch)処理および対照区(Control)土壌の化学性*

	Straw mulch	Control
pH	6.60	6.27
SD	0.46	0.29
塩分%	0.033	0.027
SD	0.015	0.006
腐食含量 (%)	3.0	2.4
SD	0.5	0.3
交換性Ca (mg Ca/100g)	15.7	14.7
SD	1.2	0.6
交換性Mg (mg Mg/100g)	9.0	11.0
SD	1.7	1.7
可給態P (P ₂ O ₅ /100g)	1.87	1.40
SD	0.06	0.46

*数値は3反復の平均値, SDは標準偏差を示す.

2) コムギ収量について

2019年と2020年に、上記の土壌調査を行ったダルハン県IPAS附属農場において、圃場試験を行い、上記(straw-mulch)と無処理区(control)におけるコムギ収量、収量構成要素および土壌の性質の比較を行った。収量調査の結果、子実収量は2019年のモンゴル国内のコムギ収量平均値が1.28(t/ha)であり、本試験におけるcontrol区が1.37(t/ha)であったのに対し、straw-mulch区では2.26(t/ha)と2倍近くまで増加した(表3)。2019年は圃場内のばらつきが大きかったことから分散分析により有

意差（5%水準）は認められなかったが、ほぼ同様の結果が2020年の試験でも再現され、平均収量が straw-mulch 区では 2.74 (t/ha)と control 区の 1.40(t/ha)を上回った（5%水準で有意）。このことから、土壌保全技術により増収が可能であることが強く示唆された。ちなみに北海道のコムギの平均収量は約 5 (t/ha)である。また、土壌物理性について調査した結果、straw-mulch 区において土壌水分量は低かったが、土壌硬度は低い傾向が示されたことから、straw-mulch 区では土壌が柔らかくなり、根系発達が改善したため、コムギの収量が顕著に増加したと考えられる。以上の結果から、モンゴルにおける土壌保全技術である straw-mulch が非常に有効に機能することが示された。ただし2020年はCOVID-19による影響から、現地に置ける調査は全て Javkhlatuya Altansuvd 博士(MULS)および Baatartsol Bumbaldai 博士(IPAS)に委託して行っており、現地における詳細な調査はできなかった。このことから、2021年度はモンゴルへの渡航が可能になり次第、現地における詳細な調査を行う予定である。

表3 ダルハンにおける2019年および2020年圃場試験の収量調査結果*

	草丈(cm)		1000粒重(g)		収量(t/ha)	
	Average	SD	Average	SD	Average	SD
2019 straw-mulch (n=4)	73.3	±12.1	22.6	±6.6	2.26	±0.66
control	68.0	±15.6	13.7	±5.4	1.37	±0.54
2020 straw-mulch (n=4)	85.5	±0.5a	27.4	±7.0a	2.74	±0.70a
control	76.3	±4.6b	14.0	±0.6b	1.40	±0.06b

*異なるアルファベットは処理間の有意差を示す(分散分析、 $p < 0.05$). 2019年は全て処理間に有意差無し。

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

以上のように、研究課題1) および2) については成果が得られ、現在も現地における実証試験が継続中である。しかしながら上記課題のうち課題3) 耐乾性品種の形質評価試験のために伊藤教授と笠島准教授が2020年3月にMULSに出張し、現地での打ち合わせを行う予定であったが、2020年3月の時点では、COVID-19による影響により、モンゴルへの渡航ができず、これについては成果を得ることができなかった。モンゴル日本間相互の研究者の移動交流が全くできない状況であり、両国の研究者ともに研究の遂行が非常に困難である。モンゴル国側の研究協力者は、できる範囲で圃場試験を継続しており、状況の改善とともに、徐々に研究を再開する予定である。

10. 公表した成果一覧

学術論文

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

国際会議報告

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

2020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, SDGs (13.気候変動に具 体的対策を)	3,476,000

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・助教	ゲノム解析等
研究分担者	宇野 雄一	神戸大学大学院 農学研究科・准教授	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	耐病性試験, 遺伝集団の育成

3. 研究期間

2020年6月9日～2021年3月31日（3年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

レタス根腐病は、フザリウム糸状菌が引き起こす高温期に発生する土壌病害である。広大な圃場全てを土壌消毒するのは非現実的であるため、抵抗性品種の導入のみが対応策となる。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、世界中の露地およびハウス栽培において大規模な発生が確認されている。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耐病性に関わる遺伝子座（QTL）を同定し、選抜育種マーカーの開発に成功した。レース1については選抜手法に関する特許出願を行って大手種苗メーカー5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、我々が見出したレース1抵抗性育種素材（以下 VII85）は、レース3には抵抗性を示さない。また、種苗メーカーと共同で品種開発を進める中で VII85 を育種素材として用いると、片側の親に由来するレース3抵抗性が失われるという問題が見られた。そこで申請者らは、レース1と3に同時に抵抗性を示す遺伝資源の探索を行い、両者に耐病性を示す系統「98-830」を選抜することに成功した。この「98-830」は、レース2に対する抵抗性も有し、3つの病原レース全てに対し強力な抵抗性を持つ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、実用的育種マーカーを開発し、育種素材と選抜手法に関する特許出願を行うことを目的とする。一般にこうした大学発の選抜育種マーカーは、実際の育種現場では利用されず埋もれることがほとんどである。一方で、本研究は種苗メーカーからの強い要望を受けて発案されたものであり、有効な育種マーカーが開発された場合は、それを活用し共同で新品種の開発を行うことに対する内諾を複数の種苗メーカーから得ている。大学ブランドの品種は実績も販売網もないため、実際に普及させることが非現実的であるが、シェアの大部分を握る大手種苗メーカーの開発力、ブランド、販売網を活かすことで、早急な抵抗性品種の開発と普及が実現できると考える。

6. 研究（実験）方法

プロジェクト全体の概要

プロジェクト開始の時点で、新素材「98-830」を交配親とした遺伝集団(F₂)の種子を得ていた。本プロジェクトでは、この遺伝集団を活用したQTL解析から、抵抗性判別のためのDNAマーカーの開発を行う。具体的には、初年度にF₂世代を栽培し、F₃世代の種子を採種する。加えて次世代シーケンサーを活用し、各F₂個体から全ゲノムに渡る多数の遺伝型情報を得る。F₃種子を翌年に播種して耐病性検定を行い、ゲノム解析から得た遺伝型情報を組み合わせて耐病性QTLの同定を行う。その後は、遺伝集団を用いて同定された領域内でQTLの限定を行い、明瞭に抵抗性遺伝型が判定できる利便性の高い多型を選定し、実用育種マーカーの候補とする。また「98-830」を含めた、様々な育種素材のゲノムシーケンシングを行い、同定された抵抗性QTL領域において各品種間のゲノム多型の比較を行い、QTL領域の限定や抵抗性遺伝子同定のための判断材料とする。加えて菌接種時の遺伝子発現の比較を行い、同じく抵抗性遺伝子同定のための判断材料とする。候補マーカー設計後は、特許申請に向けて、既存品種に対する耐病性試験、遺伝型判定を行い候補マーカーの有効性を確認し、特許申請に必要なデータを揃える。

1. 遺伝集団の育成（当初計画）

「98-830」を交配親とした遺伝集団(F₂)を播種し、耐病性検定用のF₃世代の種を得る。

2. ゲノムシーケンシング（当初計画）

遺伝集団(F₂)、抵抗性の異なる品種群のゲノムシーケンシングを行い、次年度実施予定の耐病性検定の結果と合わせ、QTL解析、ゲノム解析を行い、抵抗性QTLの同定・限定を行う。

3. レース3耐病性検定（次年度計画の一部を前倒して実施）

「98-830」を交配親とした遺伝集団(F₂)のゲノムシーケンシングを行い、次年度に実施する耐病性検定の結果と併せてQTL解析を行う予定であったが、当初計画を一部変更し、レース3耐病性検定を前倒して行った。今年度の当初計画に、耐病性検定を含めなかった理由は、種子の休眠性や栽培時の気温などの関係から実施スケジュールにやや無理があり、計画に含めるには実現可能性が不透明であったためである。

4. レース3耐病性検定抵抗性遺伝子座の探索（当初計画にない実験として実施）

既存のレース1抵抗性育種素材では、レース3に対する抵抗性が失われるという結果から、既知のレース1抵抗性遺伝子座が、「98-830」のレース1抵抗性の主要QTLであり、かつ未知のレース3抵抗性遺伝子座がレース1抵抗性と連鎖関係にあるという仮説を立て、既知のレース1抵抗性の識別マーカー

を用いて、レース 3 抵抗性との連鎖性を確認した。想像の域を超えない仮説であるため、当初計画には含めなかったが、仮説が正しければ、抵抗性遺伝子座に大きく近づける可能性があったため、実施した。

5. 植物片を対象とした direct-PCR 系の構築 (次年度計画を前倒して実施)

次年度以降、多数の個体に対するジェノタイピングを行う必要があるため、種子片や葉片に対する direct-PCR 実験系の検討を行った。

6. 実生を用いた菌接種系の構築 (次年度計画を前倒して実施)

菌接種時のトランスクリプトーム解析を行うために、菌接種時の RNA を根から得たいが、「根腐病」であるため、病兆が現れた頃には根が腐っていること、通常の土での菌接種検定では根の状態が見えないことから、実生を用いた菌の接種系を検討した。

7. 研究成果

レース 3 抵抗性の主要 QTL が同定されるなど、全体として、当初の想定を上回る成果が得られた。

1. 遺伝集団の育成 (当初計画)

「98-830」を交配親とした遺伝集団(F₂)を栽培し、次世代の種(F₃)を得ることに成功した。

2. ゲノムシーケンシング (当初計画)

一部のゲノムシーケンシングを終えたが、当初計画より小規模な実施に留まった。その理由として、当初計画に入れなかった、研究を大幅に進展させる可能性のある追加実験を優先して行ったこと、今年度中に実施しなくても研究計画全体に影響がないと考えたためである。

3. レース 3 耐病性検定 (次年度計画を前倒して実施)

試験的な実験という位置付けで行った耐病性検定が成功し、遺伝集団(F₂)各個体の耐病性データを得ることに成功した。

4. レース 3 耐病性検定抵抗性遺伝子座の探索 (当初計画にない実験として実施)

「98-830」のレース 3 抵抗性の主要 QTL が、既知のレース 1 耐病性遺伝子座の 1 つ ” *qRI-LG8* ” と強く連鎖していることを強く示唆する実験結果が得られた。また、ゲノムワイドな多型データを用いた QTL 解析の結果、同じ染色体領域に QTL が検出された。

5. 植物片を対象とした direct-PCR 系の構築 (次年度計画を前倒して実施)

種子片では、ほぼ 100% の確率で増幅される反応条件を発見した。レタスの種子には方向性があり、胚乳の一部 (種子の 1/3 程度) を切り取っても発芽能を維持することができる。100 個の種子の胚乳側の 1/3 程度を切り落として播種した実験では、全ての実生が正常に生長した。また、切りとった種子片を対象に PCR を行った結果、100 個全てで目的の断片が増幅された。同様の試薬セットを葉片に適用すると、若い葉から小片を採取し使用した場合で、高い確率で増幅された。一方で、生長した (老化した) 葉を用いると増幅が不安定になることがわかった。

6. 実生を用いた菌接種系の構築 (次年度計画を前倒して実施)

レース 1~3 に対して検討した。菌を接種した種子を湿らせた濾紙上に播種すると、レース 2 では 7 日目から急激に病気が広がり植物体が枯死するため、6 日目の植物体を採取することが望ましいと判断した。しかし、湿度などに敏感なようで植物の反応にブレがあるため、系を安定させるためのさらなる条件検討が必要であった。レース 1,3 は、より植物の反応のブレが大きく、現状実用的な検定系の構築には至っていない。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

レタス種子や葉を用いた、安定的な direct-PCR システムを構築することができた。本課題以外にも活用できる技術である。育種の現場では、育苗繁忙期にジェノタイピングが集中し、時間外労働が発生する原因となっている。葉を直接のテンプレートした PCR が可能になったことで、DNA 抽出を行うことなくジェノタイピングが可能になり、作業効率が高まると考えられる。また種子を対象に PCR が行えるようになったことで、育苗繁忙期以前からジェノタイピングをはじめることが可能になり、閑散期の実験リソースを有効に活用することができる。同技術を本課題の最終目標とする成果物(育種選抜マーカー)と合わせることで、その利用価値を一層高めることができると考えられる。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

新素材「98-830」のレース 3 抵抗性の主要 QTL が、既知のレース 1 抵抗性遺伝子座の 1 つ ” *qRI-LG8* ” に存在することが明らかとなった。今後は、レース 1 の抵抗性遺伝子座も、*qRI-LG8* であるのかを確かめる必要がある。今後の研究の方向性は、レース 1,3 の抵抗性の大部分が *qRI-LG8* で説明が付くのか、否かによって変わる。

レース 1 抵抗性の主要 QTL が *qRI-LG8* であった場合

レース 1,3 抵抗性の主要 QTL が *qRI-LG8* と考えると、合理的に説明の付く事柄が多いため、こちらの可能性が高いと考える。レース 1,3 の抵抗性遺伝子座がどの程度の距離、位置関係にあるかは、まだ不明であるが、ほぼ単一の遺伝子座と見なせるほど近い距離になるのなら、「98-830」は極めて有用な育種素材であると考えられる。今後は、*qRI-LG8* 遺伝子座で既存の選抜マーカーの有効性の検証、ファインマッピングを進め、実用性の高い育種選抜マーカーの開発を進め、早ければ次年度中に特許出願に向けた事務的な手続きに入りたいと考えている。

レース 1 抵抗性の主要 QTL が *qRI-LG8* でない場合

QTL 解析の結果、主要 QTL が *qRI-LG8* でなかった場合は、レース 1,3 の遺伝子座それぞれについて、QTL 領域の限定を進める必要がある。その場合は、まずレース 3 遺伝子座の育種選抜マーカーの開発を優先的に行う。

その他

トランスクリプトーム実験に用いる RNA サンプルを得るための実生を用いた菌接種系の開発では問題点が残っている。湿度コントロールを厳密に行う、種子や菌の状態を揃えるなど、地道な条件検討を行い、最終年度までに適切な接種系の構築を目指す。

葉を用いた direct-PCR 系では、PCR に用いる葉の片大きさを揃えることが重要である可能性が高いため、利便性の高い葉のパンチャーの選定などを行う。

10. 公表した成果一覧

なし

2020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	4,000,000

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・准教授	植生回復

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の1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。

半自然草地在放棄されることは、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。こうした草地在放棄されると、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

調査は、山梨県小菅村で行った。小菅村は東西14 km、南北7 km、総面積5,265 ha、標高530-2000 m、年平均気温9.8°C、年平均降水量1552 mm、森林率95%、人口715人、高齢化率は46%である（2020年4月現在）。小菅村において、a)土地利用変化、b)植物の種・系統的多様性、c)節足動物の多様性、d)埋土種子相について調べた。調査は主に2020年度に行ったが、一部、野外サンプリング自体は2019年度（助成期間以前）に行い種同定やデータ解析を2020年度に行ったものもある。

1a) 土地利用変化

村内にある8つの集落のうちの4集落（長作、橋立、白沢、中組）で調査を行った（表6-1）。1940-2010年の4小字における筆（田畑一つ一つ）レベルでの土地利用履歴が、中村(2011)による土地所有者へのインタビューにより、1940-1959（以降1950）年、1960-1979（1970）年、1980-1999（1990）年、2000-2010（2005）年の4年代について既に分かっている。2011 - 2020（2015）年の土地利用履歴を明らかにするために、4小字内の土地所有者全員のお宅約44軒に伺い、所有筆の現在と過去の利用の仕方やその期間などについてインタビューした。

中村（2011）で作成された1940-2010年までの土地利用色分け図は、公図に基づく。この公図のデジタルデータを小菅村役場で入手し、座標付与のためArcGIS(10.7.1)でジオレファレンス作業を行った。1940-2010年の土地利用色分け図と、ヒアリング調査から作成した2011-2020年の土地利用色分け図を、公図と同様、ArcGIS内でジオレファレンスした。この土地利用色分け図を参照しながら、公図上に色分けを行った。そして、5時期間における各土地利用区分の面積変化率を求めた。インタビューによって

抽出された土地利用の属性を、畑や草地等を含む 19 の凡例にまとめた。今回は、それをさらに集約させて 7 つの凡例で示した。

1950 年時に農地（耕地、果樹、農道＋宅地）であった筆（全 710 筆中 560 筆）が、2015 年時に農地、耕作放棄地（耕作放棄地、植林地、柴山）、草地の 3 つのどの土地利用に変化したかを調べた。各筆の傾斜角と距離（最寄りの住宅や道までの距離）は有意に相関していたため（ $n=710$ 、 $r=0.496$ 、 $p<0.0001$ ）、PCA 解析を行い（説明力 78.4%、princomp 関数、Rcmdr パッケージ、R）、PCA 1 軸をアクセシビリティ指数とした。アクセシビリティ指数を 4 等分し（1 が最もアクセスが良い、4 が最もアクセスが悪い）、段階ごとに 3 つの土地利用タイプの面積割合を求めた。

表 6-1 4 小字の基本データ

	長作	橋立	白沢	中組
総面積(ha)	3.4	3.1	3.4	2.1
筆数	79	115	92	56
世帯数	25	51	17	61
平均傾斜角	25±10	22±15	23±5	12±4
斜面方位	東	東	東	北
距離(m)	187.7	63.7	91	55.2

1b) 植物の種・系統的多様性

小菅村の 6 集落（白沢、中組、橋立、長柵、東部、小永田）内の 9 地区（白沢夏地、マフジ久保、上割間、倉骨、前原、山沢、横道、余沢、コセド）において調査を行った。ここで見られる半自然草地の耕作履歴や草刈り管理手法（中村 2011）に基づき、半自然草地を以下の 10 タイプに分けた；土地境界部などで景観管理のために綺麗に草刈り管理をしている場所で、過去に耕作履歴が有るあるいは無い場所（管理/あり、管理/なし）、ワラビなど山菜を採るための草刈り管理地（山菜/あり・なし）、村特産であるこんにゃく栽培のためのマルチ用のススキを採るための草刈り管理地（ススキ/あり・なし）、かつては草刈り管理をしていたが今はやめて遷移が進んだ放棄低木林（現地の言葉でボサという）（ボサ/あり・なし）、放棄低木林「ボサ/あり」と似るが低木林にまで発達していない耕作放棄からまだ数年程度の草地（放棄草地）、及び耕作地（耕作地）（表 6-2）。

1×1m プロットを各タイプに 12-22 プロット設置し（計 130 プロット）、1 年間に 2-3 回植生調査を行った。130 プロット全体で 96 科 229 属 324 種、被子植物は 86 科 225 属 307 種記録した。レッドリスト種は 39 種見られた。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（山梨県及び隣接する 5 県において準絶滅危惧、絶滅危惧 1 類及び 2 類と認定された県の総数（最大 6 点/種））を求めた。出現種のラウンケルの生活型を調べた。プロット間の種組成類似度を、非類似度指数に Jaccard 指数、R vegan パッケージ内の metaMDS 関数を用いて算出した後、非計量多次元尺度法 NMDS によって図化した。

得られた被子植物 307 種について、APG III 植物分類体系に基づいた学名リストを作成した。植物系統学ソフトウェア Phylomatic 3.0 に取り込み系統情報を算出し、系統樹描写ツール iTOL を用いて円形系統樹を作成した。各プロットの系統的多様性を、Faith の Phylogenetic Diversity (Faith' s PD) で評価した。Faith' s PD は、系統樹の枝の長さを合計して求めた。群集に新たな種が加わると系統樹が大きくなるため、各プロットの Faith' s PD と種数/プロットは有意な正の相関を示した（ $r=0.97$ 、 $p<0.001$ 、 $n=130$ ）。各プロットの系統構造が系統的クラスタリングまたは系統的過分散のどちらにあるのかを検証するた

めに、各プロットの NTI (nearest taxon index) を求めた。NTI 値が正の場合は系統的クラスタリング、負の場合は系統的過分散である。Faith's PD と NTI は、R の picante パッケージの関数群を用いて計算した。

表 6-2 10 の植生タイプ

耕作履歴	あり	あり	あり	あり	あり	あり	なし	なし	なし	なし	なし
管理タイプ	耕作地	管理	山菜	ススキ	放棄草地	放棄低木	管理	山菜	ススキ	放棄草地	放棄低木
プロット数	12	12	12	12	22	12	12	12	12	0	12

1c) 節足動物の種多様性

植生調査を行った 130 個の 1×1 m プロットを任意の方向に拡張した 1×3 m の長方形のプロットにおいて、春季、初夏、晩夏、秋季の 4 季節において節足動物のサンプリングを行う。口径 42 cm 柄長 120 cm の捕虫網を用い、晴天の日中に 1 プロット当たり 15 回のスウィーピングを行った。スウィーピングとは、植物体に満遍なく触れるよう捕虫網を振るサンプリング方法で、昆虫の行動特性やサイズに関係無く葉上生活者を得ることが出来る。スウィーピングは落枝落葉を除くプロット内の全ての枯死体、植物体に満遍なく網が触れるように行い、木本に対しては網の届く範囲で行った。また雨天時はサンプリングを行わず、晴天が 6 時間継続した後にサンプリングを再開した。

採取された昆虫綱 (外顎綱) の成虫について、実体顕微鏡を用いて形態的な種同定を行った。ただし同定に寄主植物と付着位置の情報が必要なアブラムシ科については、種同定は不可能とし個体数のみをカウントした。出現種のギルドとして食性と摂食形態について文献調査を行い、可能な範囲で記録した。食性は、植物質食、動物質食、菌類食、甘露食、雑食の 5 種類に分類した。摂食形態は、植物質食については外部葉食、内部組織食、腐植食の 3 種類に、動物質食については捕食、寄生、腐肉食の 3 種類に分類した。

1d) 埋土種子相

130 個の各プロットから 1 m 以内の場所 1 か所において、深さ 5 cm、1.3 L の表土を採取した。採取の都度 5 mm メッシュ篩を用いて礫を取り除き、研究室でさらに 2 mm メッシュ篩にかけた。直径 21 cm、高さ 21 cm のプラスチック製円形ポットに、パーミキュライトを厚さ 8 cm 入れ、その上に不織布を敷き、その上にサンプル土壌を厚さ 1.6-2.3 cm 蒔き出した。対照区として、パーミキュライトのみのポットを 28 個用意した (130+28 個=158 個)。春季に撒き出し、全体に寒冷紗 (遮光率 22 %) を掛け、水やりを 1-4 回/週行った。発芽した芽生えの同定と個体数を記録し、同定した個体はポットから速やかに取り除いた。同定困難な種は、同定が可能になる大きさになるまで栽培した。

ラウンケルの生活型、帰化率、レッドリスト・ポイントを求めた。プロット間の種組成の類似度を、R の vegan パッケージの metaMDS 関数を用いて算出し、非計量多次元尺度法 (NMDS) で図化した。

2) 希少種の再導入手法の確立

調査は、東京都と神奈川県の間にある陣馬山 (標高 855m) とした。陣馬山頂周辺では戦前には草原やカシワ林が広がっていたが、戦中にはその一部が開墾され、畑作が行われた。1957 年の空中写真の判読によると、山頂から少なくとも 1 km の範囲には草原が分布していた。その後草原の範囲は 1987 年には山頂付近約 2 ha に縮小した。現在、山頂にある茶屋の管理者が定期的に草刈りを実施し、1987 年と

概ね同じ範囲に草原が維持されている。

2a) 再導入試験

陣馬山頂において、現地で減少している数種の草原性在来植物を再導入するための準備作業を行った。2020年9月～12月に月1回、現地で草原性在来種の採種を行い、タムラソウ、コオニユリなど10数種の種子を得た。再導入予定地は、陣馬山頂脇の草本群落が成立している東京都有地のうち、戦中に一時的に畑作が行われていた箇所（A地区）と、開墾履歴のない箇所（B地区）の2箇所とした。続いて再導入予定地において表土の理化学性を把握するため、2020年12月に表土を採取した。

2b) 導入時期とその後の残存状況との関係

陣馬山頂への再導入は、2021年の春から夏までのいずれかの時期に設定している。手持ちの植栽試験データを用いて、種子に対する苗移植の利点ならびに、種子や苗による現地への導入に当たって導入個体の定着や隣接他種個体との競争に有利となる導入時期を検討した。それにより、導入予定地への定着に適した植栽時期の事前把握に努めた。

3) 草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化

11月8-10日にかけて、プロジェクトメンバー5名全員で、熊本・阿蘇の視察を行った。広大な火入れ草草が広がる北外輪の木落（きおとし）及び下荻野草（しもおぎのくさ）牧野、東側（波野）の町古閑（まちこが）牧野周辺を視察した。複数箇所において、植生や露頭の観察を行った（図1）。今後の調査地、調査方法、スケジュールについて検討した。



図 6-1 阿蘇での調査の様子

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

11月10日に、阿蘇の草地管理支援を行っている「NPO 法人阿蘇グリーンストック」とプロジェクトメンバー5名全員で、牧野組合との協働型の調査手法について意見交換を行った。また、木落牧野と下荻野牧野の土地利用履歴についてヒアリング調査を行った。

2021年1月10日に、環境省阿蘇草原再生協議会草原学習小委員会において、小中学校の環境教育に還元する本研究のアウトリーチ活動について議論を行った。

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

1a) 土地利用変化

4 小字に共通して、1970 年から耕地が減少する一方、草地の割合は増加した（図 7-1、図 7-2）。草地は、2005 年から微減した。1970 年から、耕作放棄地と植林地が増加した。耕地の減少は、集落から耕地までの距離が遠い長作で速く（表 6-1、図 7-2a）、最も傾斜が緩い中組で遅く（図 7-2d）、橋立と白沢はその中間だった（図 7-2b,c）。

1950 年時に農地だった筆は、2015 年時には耕作放棄地・森林（図 7-3a）、農地・農道（図 7-3b）、草地（図 7-3c）のいずれかになったが、その面積率はアクセシビリティによって異なった。アクセシビリティが悪くなるほど（数値が大きいほど）、耕作放棄地・森林の面積率は増加したが（図 7-3a）、逆に農地・農道の面積率は低下した（図 7-3b）。草地は、両者の中間的パターンを示した（図 7-3c）。

草地の面積は全年代をとおして大きく変わらなかった（図 7-4）。ただし、1970 年から現在にかけて、草地は新規に成立しつづけていた（図 7-4）。これは、高齢化によって労働集約度の高い耕作はやめざるを得なくても、労働集約度の低い草刈りはその耕作放棄地において行い、採草地や山菜用地等として草地利用を続けていることを示唆する。4 集落における現在の草地面積率は 7-19%（n=4）だが、過去 80 年間一貫して草地だったのはわずか 0-6%、したがって現在みられる草地の 70-100% はここ数十年のうちに耕作地だった場所が草地転用された場所であることが分かった。これまで、過疎高齢化によって耕地や半自然草地が放棄されて減少する事例は多く報告されてきた。しかし本研究は、耕作放棄後にむしろ半自然草地が新規に成立・拡大するフェーズがあることを示した。

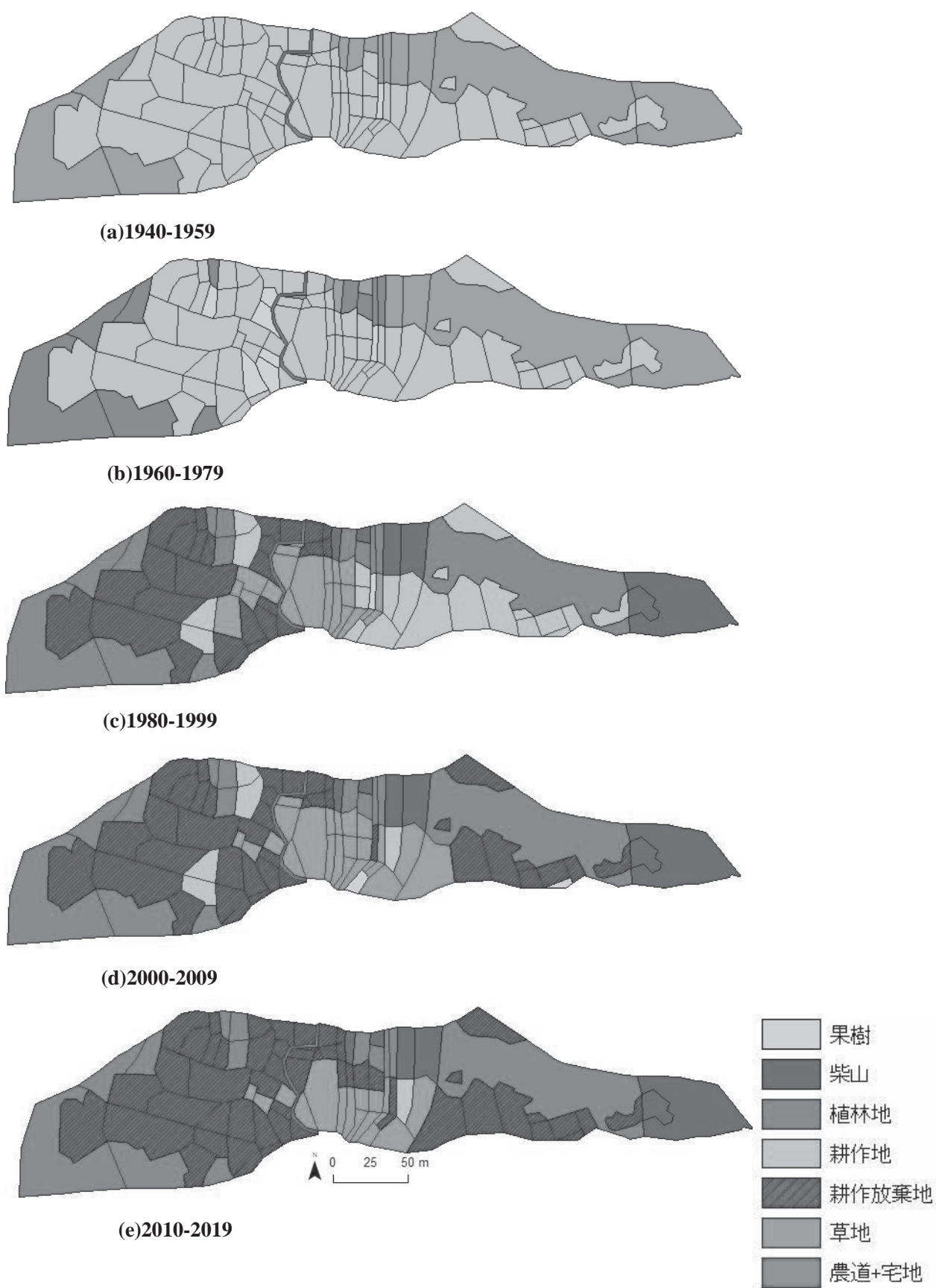


図 7-1 長作地区の土地利用区分図

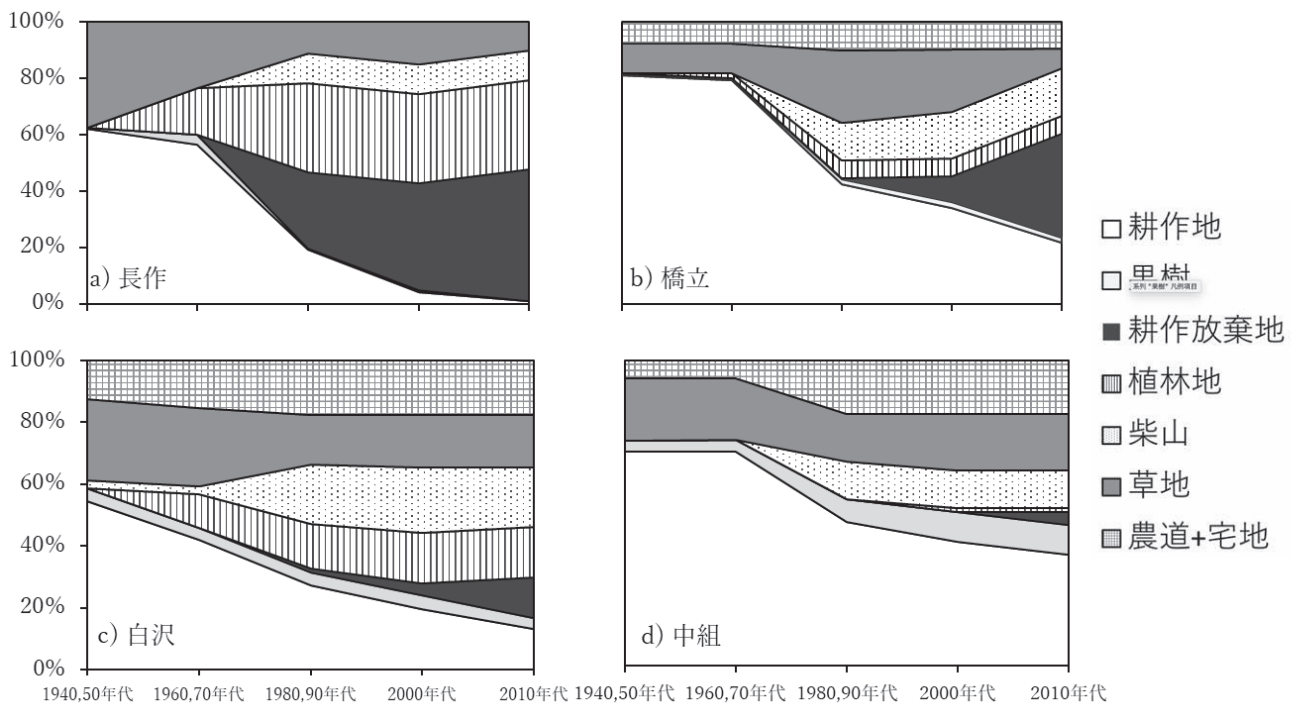


図 7-2 各土地利用の面積率 (%) の変化

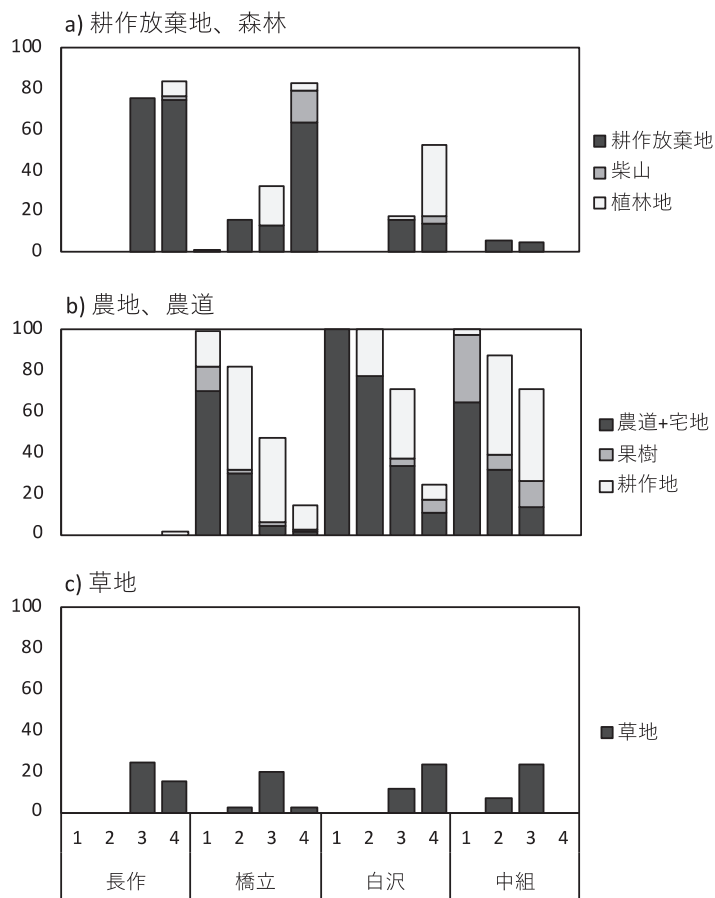


図 7-3 アクセシビリティが土地利用変化に及ぼす影響。1940,50 年代に農地であった筆の、2010 年代における各土地利用の面積率 (%)

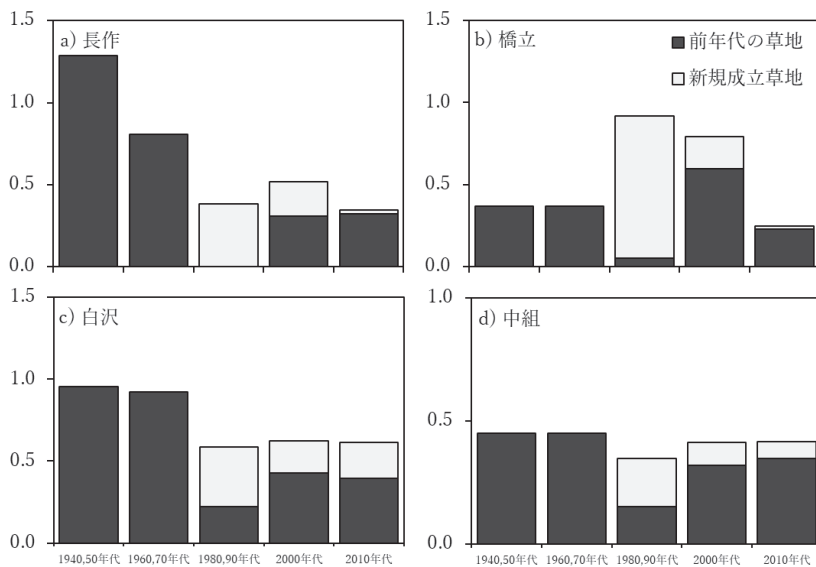


図 7-4 草地面積 (ha) の経時変化。前年代における草地がそのまま引き続いている草地と新規に成立した草地を分けて示した

1b) 植物の種・系統的多様性

種数/プロット、総種数、レッドリスト・ポイント、Faith's PD は、耕作履歴のない植生タイプの方があるタイプよりも高かった (図 7-5)。耕作履歴がある植生タイプとは、前述のここ数十年で新規に成立・拡大した草地のことである (図 7-4)。帰化率は、これらと逆のパターンを示した。NMDS 解析の結果を図 7-6 に示した。管理、山菜、ススキは、合わせて「草地管理」としてある。第 1 軸 (X 軸) に沿って左から右に向かって耕作地、草地管理あり、放棄草地・低木あり、草地管理なし、放棄低木なしと分布していた。耕作履歴ありの半自然草原の中には耕作放棄から 50 年以上経過した場所さえある (図 7-1)。それでも種多様性が履歴なしのレベルにまで回復していないことから、過去の耕作が希少種に不可逆的な負の影響を与えていると言える。耕作による富栄養化、粒径組成の変化、菌根共生の不在、新規移入種の分散制限などが、耕作放棄後数十年以上経ってもなお希少種の定着を妨げ続けていると考えられる。このように、従来言われてきたように伝統的農地景観ならどこでも生物多様性が高いのではなく、その中でも土地利用履歴が駆動するホットスポットがある事が分かった。

系統的クラスタリング(群集がランダムに予想されるより近縁種で構成) が、耕作履歴ありの半自然草地で生じていた (図 7-7)。ここは先述のように耕作に伴う不可逆的な負の影響があり、それに適応した帰化種、イネ科やキク科などの r 戦略的な特定の分類群が多い群集構成であると考えられた。一方、系統的過分散 (遠縁種で構成) が、履歴無しの一部の草地で見られた (図 7-7)。これは、伝統的草地管理に伴う適度な攪乱強度によって、互いに遠縁で様々な生活型の種から成る群集であると考えられた。このように、半自然草地の群集集合は、耕作履歴に規定されていた。

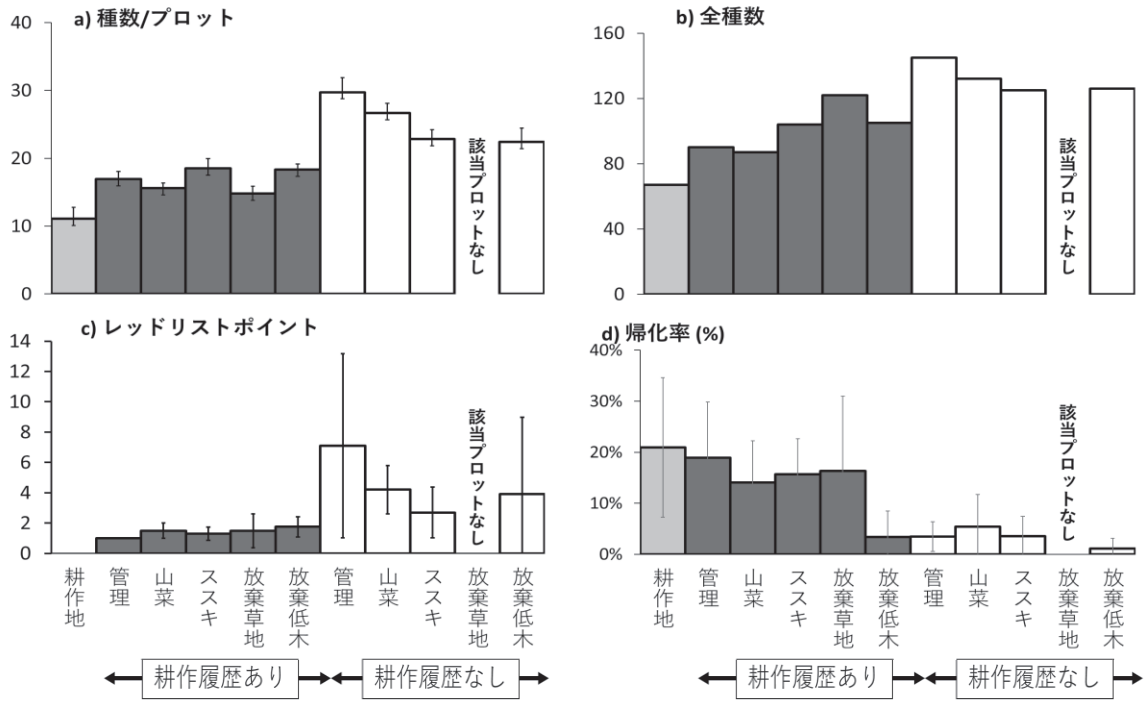


図 7-5 種数、レッドリスト・ポイント、帰化率の比較

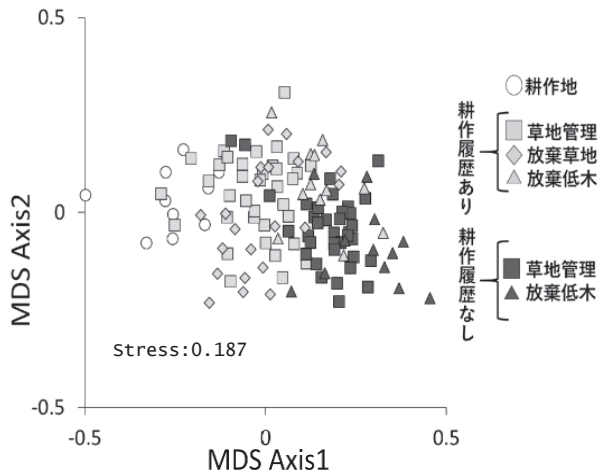


図 7-6 NMDS による植生タイプ間の群集組成の序列化

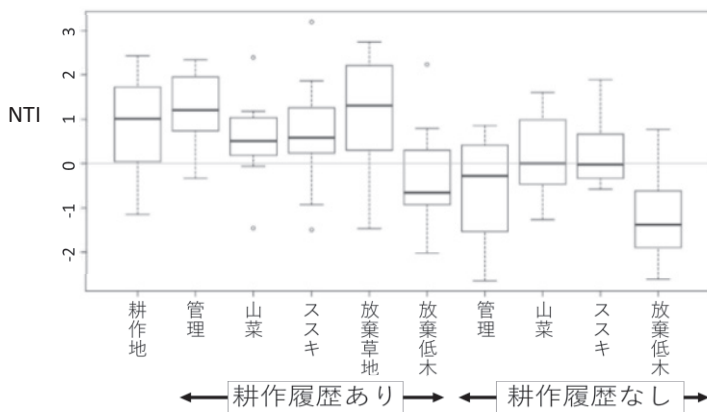


図 7-7 植生タイプ間の NTI の比較

1c) 節足動物の種多様性

秋季に得たサンプル全体の同定が完了し、アブラムシ科以外の昆虫の成虫 921 個体 248 種が得られた。今後、種の多様性、組成、ギルド構造に関する解析を進める。

1d) 埋土種子相

埋土種子相で 3964 個体 31 科 105 種が出現した。種数は、地上植生では耕作履歴がある方が無い方より少なかったが (図 7-8a)、埋土種子ではその逆になった (図 7-8b)。帰化率は、地上植生と埋土種子の両方で耕作地が最大で、耕作履歴がある方が無い方より高かった (図 7-8c,d)。レッドリスト・ポイントは、地上植生では耕作履歴が無い方で多く出現したが、埋土種子ではほとんど見られなかった (図 7-8e,f)。ラウンケルの生活型は、地上植生に比べて埋土種子では一年生及び半地中植物が非常に多かった (図 7-8g,h)。NMDS 解析の結果 (図 7-9)、埋土種子では耕作地のみ x 軸に沿って左端に偏ったが、それ以外は耕作履歴、管理手法によらず種組成に差はなかった。

以上のように、地上植生では耕作履歴なしで種多様性が高かったが、埋土種子相では、全体的にハルジオン・メヒシバ・ヒメジオンといった一年生や半地中型の路傍雑草が多く、耕作履歴あり/なし間で種多様性や組成も似ていた。埋土種子相で希少種がほとんど出なかった理由として、1)希少種的生活型、2)管理手法、3)実験環境、が考えられた。1)については、本調査地の希少種の多くが多年生の地中植物で、こうした種は一般に埋土種子相を形成しない傾向がある。2)一般に、繁殖期の草刈り管理は開花・結実数を低下させる。本調査地の管理草地でもこうした時期に草刈りが行われていたため、希少種の埋土種子が少なかった可能性がある。3)については、野外とポットでは気象や土壌環境が異なり、特にポットの方が乾きやすいため、こうした厳しい環境に適応的な路傍雑草が多くなった可能性がある。

生物多様性の低い耕作履歴ありの場所において、地上植生にはいなかったが埋土種子相には出現した種が 4 種 (キランソウ、ニョイスミレ、ヨツバムグラ、ミミナグサ) あった (データは示さない)。これらは、耕作跡地にまで種子散布されたが発芽定着までは出来ていない種 (あるいは地上部では偶然サンプリングされなかった種) であると考えられる。ただし、希少種はこうした出現パターンを示さなかったことから、耕作跡地では希少種の種子がごく少量しか散布されていない可能性はある。

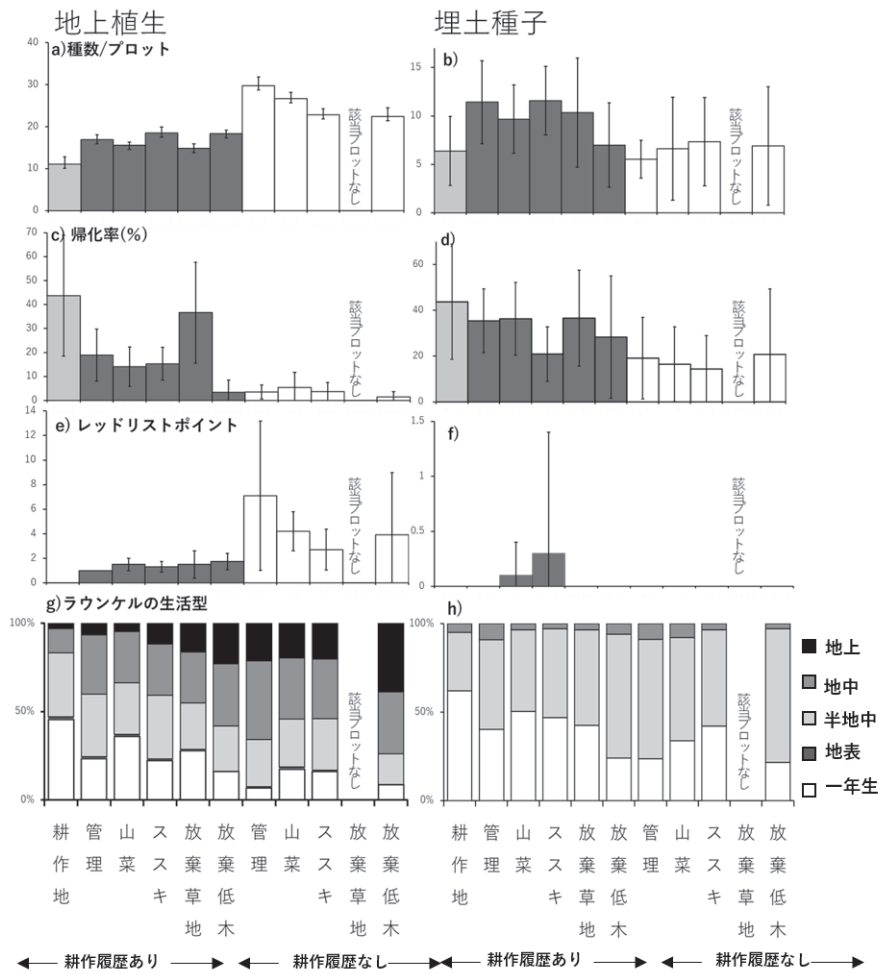


図 7-8 地上植生と埋土種子相間の比較

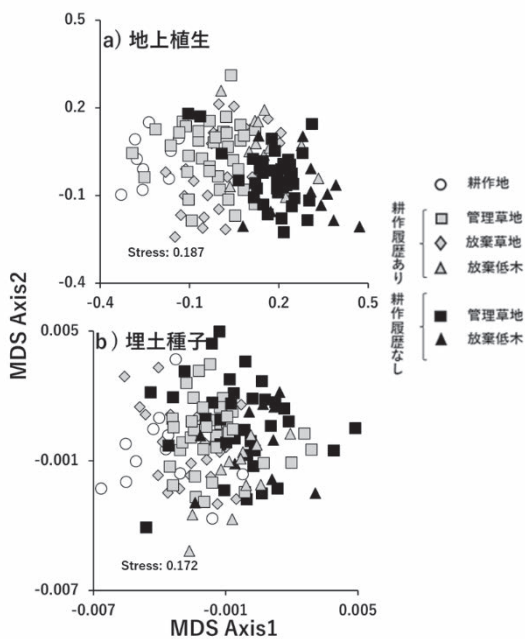


図 7-9 NMDS による種組成の序列化

以上のように、小菅村に現在みられる大半の半自然草地は、耕作放棄後に新規に成立した草地であること (a)、そうした耕作履歴がある草地は、放棄後 50 年近く経過していても植物の多様性が低い (レジリエンスが低い) ことが分かった (b)。また、この低レジリエンス草地における生物多様性の低さの原因として、希少種の種子がこうした半自然草地にまで散布されていない可能性があり、その検証のために埋土種子実験を行ったが (d)、この仮説を完全に支持する結果は得られなかった。

2) 希少種の再導入手法の確立

2a) 再導入試験

陣馬山頂から回収し、キャンパス内圃場で播種した種子のうち、タムラソウとコオニユリについては、播種後速やかな発芽が確認された。それらについては、現在、室内にて苗の育成を行っている。その他の種については、春季に順次発芽すると考えられる。一方、導入予定地の土壌化学性を測定中である。測定が終了した pH については、A 地区、B 地区とも 5.8 程度と弱酸性となった。通常、耕作地やその放棄地で認められる土壌 pH の上昇は、両地区とも認められなかった。

2b) 導入時期とその後の残存状況との関係

手持ちの植栽試験データのとりまとめから、播種よりも育苗した苗を植栽したほうが、導入予定地での定着率を全般に高められることが分かった。雑草芽生えの活発な春先よりも、高温となり多くの雑草の発芽適温域の上限を超える梅雨後半以降に植栽すれば、植栽後に発生する雑草の個体数が減少し、導入個体の残存率が高まることが分かった (Yamada et al. 2021)。

3) 草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化

研究結果はまだない。

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

阿蘇地域における野焼きボランティアである「阿蘇グリーンストック」と、草地保全活動に取り組む地元牧野組合や NPO・NGO、行政、研究者等のからなる「阿蘇草原再生協議会」の草地管理支援のマネジメントの一部を明らかにした。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

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

本年度の調査により、植物の視点からレジリエンス喪失の実態を把握することができた。この植物の種多様性低下を始点として、その消費者で、重要な生態系サービスを担い、市民にとって魅力的なフラッグシップ種でもある昆虫群集にも悪影響を及ぼしている可能性がある。節足動物の調査を進めることで、これを明らかにする。昆虫の群集構造の変化は、植物形質の変化を始点とするカスケード効果によるものである。そこで今後、植物の機能形質 (繁殖型、生活型、葉の強度や炭素・窒素濃度) を調べる予定であり、既に今年度予備調査を行った。

土地利用履歴の解析から、レジリエンス喪失草地の時空間的なパターンを把握することができた。耕

作履歴がなぜこれほど長期にわたって植物種組成に負の影響を及ぼし続けるのか？を明らかにするため今年度は埋土種子調査を行ったが、判然としなかった。来年度は、全プロットから土壌をサンプリングしてその物理化学性について分析を行い、その原因を明らかにする予定である。

2) 希少種の再導入手法の確立

本年度実施した解析結果を踏まえ、梅雨後半の6月頃、苗による導入を予定する。来年度、A地区、B地区それぞれで、育苗した個体を2種以上、種ごとに5個体以上導入する。植栽個体については草高、葉数などを継時測定し、植栽個体周囲の競合個体の生育状況も記録する。また、両地区では、土壌の全窒素全炭素含量、可給態リン含量など現時点で未測定 of 土壌化学性の測定を速やかに行う。

3) 草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化

本研究テーマは、今年度の研究討論と11月の現地視察を通して生まれた新しいテーマである。そのため、調査プロットの設定を一から行う必要がある。また本研究は、モンスーン温帯草地の放棄後遷移に沿って生態系炭素量の変化を明らかにする世界初の研究である。多くの新知見が得られることが予想される一方、研究実施において困難も予想される。しかし、長年にわたって現地協力機関と協力関係を築いてきた町田、効率的な調査プロット設定を可能にする衛星画像・空中写真の解析を専門とする下嶋、長年草原および森林の調査を行ってきた山田および今井、そして土壌の物理化学性や炭素動態を専門とする加藤、という本研究テーマを強力に推進できるメンバーが揃っているため研究実施に問題はない。これまで半自然草地保全の重要性は、水土保全、生物多様性保全、景観維持、文化伝承の面から言及されてきた。本年度の阿蘇地域の視察においても、現地の博物館や観光施設ではそうした機能の重要性を前面に押し出した展示が行われている印象を受けた。しかし本研究を通して、炭素貯留による温暖化緩和機能という新たな視点からその重要性を訴求できる可能性を提示できる。また、本研究をフィージビリティ・スタディと位置づけ、科研費への申請も視野に入れている。

方法は以下である。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。各プロットの植物の種数、バイオマス、表層土壌の炭素量と物理化学性を調べる。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。

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

本年度で実施したヒアリング調査を継続し、次年度は対象地の土地利用履歴の調査や、牧野組合員の年齢構成や組合人数等からみた社会調査を行い、草地管理の実態と課題を明らかにする。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Machida R, Otsu E, Shima H, Yagi H, Mochizuki K, Machida J, Shimojima H, Honda N (2021) The Kumamoto earthquake's creative reconstruction effort led by a diverse range of organizations. *International Journal of GEOMATE* 21:86-92
- 2) Yamada S, Nemoto M, Okuro T (2021) Season and plant life history stage in revegetation influence competition of foundation species, subordinate species, and weeds in a reclaimed grassland. *Ecological Engineering* 162: 106178

学会発表

- 1) 吉田和叶, 飯田みのり, 北川淑子, 山田晋 (2021) 3年間の放棄後植生管理が再開された半自然草地における新規発芽および残存状況. 日本生態学会第68回全国大会, 岡山

その他

- 1) 今井伸夫, 加藤拓, 下嶋聖, 町田怜子, 宮林茂幸 (2020) 東急財団 研究助成・学術研究 最終報告書: 多摩川源流域における「耕作跡地の二次草原」の生物多様性とその時空間動態. Pp35

2020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	気候変動 (SDG's No. 13)	4,000,000

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
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、 適応農法開発
	真田 篤史	国際食料情報学部 国際農業開発学科・助教	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・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

2020年6月9日～2021年3月31日（3年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

我が国では近年、強度の強い雨の頻度が増えており（気象庁、2020）、平成29年7月九州北部豪雨や平成30年7月豪雨、令和元年の台風15・19号、さらには令和2年7月豪雨による土砂災害・水害は記憶に新しい。一方で、地域によっては干天発生回数の増加が報告されており（早野ら、2001；有森・草地、2021）、今後、世界的に大雨の頻度や大雨時の降水量の増加とともに、干ばつの頻度や継続日数の増加が懸念されてい

る（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の悪影響が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、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

土壌侵食を招く降雨強度と、作物（ダイズ、トウモロコシ等と果樹（ナシ、リンゴ等）を想定）の水ストレスを引き起こす連続干天日の判定手法を確立する。これに伴い、降雨や土壌水分、および葉のストレス状態（水ポテンシャルとクロロフィル蛍光）を連続的に測定する。

1-2 窒素流出に及ぼす影響の解明

集中豪雨によって、硝酸イオン（ NO_3^- ）の急激な地下への溶脱が示唆されている（遠藤ら、2018）。そこで、降雨強度や連続干天と農地からの窒素流出の関係について、水質分析を通して明らかにする。

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・山崎）

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

水資源ポテンシャル（賦存量）の長期変動傾向を明らかにするための水収支モデルを構築し、また水資源量に依存して、作物収量がどの程度の影響を受けるかを評価するための作物生長モデルを取り入れる。公開されている気象データと現地での実測データを用い、蒸発散量と浸透・流出量はそれぞれ、Penman法とSCS-CN法、また水文流出モデルであるTOPMODELで求める。水収支モデルと作物生長モデルを複合的に組み合わせる長期変動傾向を明らかにする試みは他にはない。さらに、このモデルは水資源の予測に資することができ、将来的な営農対策を講じる上で有用となる。

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

上記項目1の結果と2-1で構築したモデルをもとに、過去の長期気象データから、我が国における複数の地域において、リスクとなりうる降雨パターン（土壌侵食や肥料成分の流出を招く降雨強度と水ストレスを引き起こす連続干天日の頻度）の長期変動傾向を明らかにし、将来にわたるリスクの評価を行う。

項目 3. リスク軽減農法の開発（目的③に対応；山崎・真田・篠原・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土壌表面からの蒸発を抑制し、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う。

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

耕起や硬盤破碎など、土壌に働きかけることによって、土壌の浸潤能と土層内の保水性の向上効果を検証する。耕起と硬盤破碎の実施区と対照区を設け、降雨やその後の乾燥に対して、浸透や表面流出、また土壌中の水分変化の違いを連続的に観測する。また降雨パターンの変化に起因するリスクに対する、果樹を含む作物の品質管理のあり方について検討する。

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

マルチの有無によって、蒸発の抑制と雨滴の衝撃の低減、浸透速度緩和の効果を定量的に評価する。また堆肥の施用の有無や施用方法の違いが、土壌の保水性や排水性に及ぼす影響を調査する。施用方法は、施用後に土壌と攪拌する方法と、ある程度の深さに層状に施用する方法を比較する。また、土壌微生物のコロニー（BSC；Biological Soil Crust）を利用した、土壌流亡の抑制効果についても検証する。

3-3 作物の根系発達農法の検討

深根性の植物を利用することによって、土壌中に粗孔隙を発達させることができる（Noble et al.、2008）。粗孔隙は次作の作物根の通り道となることから（McCallum et al.、2004）、ソルガムやデントコーンを利用して粗孔隙を形成させ、次期作（小麦を想定）の根系発達に及ぼす影響について検討する。また上記 3-2 に述べた堆肥の施用方法の違いは、根系の発達にも影響することが期待されるため、効果の検証を行う。

令和 2 年度は、以下の項目について取り組んだ。

項目 1：

1-1 土壌と作物に及ぼす影響の解明

降雨強度が土壌の浸透能を超えると、傾斜がある農地では土壌中に浸透しきれなかった余剰な雨が流去するため、土壌侵食や水質負荷の流亡を引き起こす。どの程度の降雨強度で表面流（およびそれに続く土壌侵食）が起こるのかについて、従来は、流出量や侵食量の測定との比較で評価されていた。しかし、表面流（土壌侵食）の直接的な引き金となる表面水の発生（降雨強度が土壌の浸透能を超える瞬間）を直接観測する方法がなかった。そこで誘電土壌水分センサを活用して、とくにセンサの設置方法について工夫することによって、表面水発生の観測を試みた。

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、土壌カラムを用いた土壌中の溶質移動に関する試験方法を確立することを目的として、予備試験を行った。これは、実験室内の温度や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を解析することができる。

項目 2：

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

作物生長モデルを構築するための入力パラメータ（植生被覆率）について、UAV 画像と衛星画像との比較から検討した。さらに、福島県三島町において、気象データ、河川流量の 10 分インターバル計測を継続している。

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

気象庁では、全国 51 地点の気象官署において、100 年以上の降雨データが記録され、公開されている。本研究では、栽培期間である 5 月～10 月の降雨データをもとに、連続干天の長期変動傾向について検討した。

項目 3 :

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

横浜市都筑区折本農業専用地区の畑地（黒ボク土、壤土～砂壤土）を対象に、(1)農地の傾斜改善、および(2)心土破碎、の 2 つのアプローチについて検討した。(1)では、傾斜率が 15～20 %であった圃場で 2019 年 12 月～2020 年 3 月に圃場整備工事を行い、1～2 %の傾斜率となるよう改善を行った。施工前の 2019 年 8 月～12 月と、施工後の 2020 年 9 月～12 月において、土壌の浸潤特性（吸水度）と降雨後の表面湛水発生の有無を測定し、また傾斜の下部に集水柵を設け、流出の有無を観測した。なお同圃場は 2019 年度までは作付けを行っておらず、2020 年度はコマツナを栽培したため、ロータリー耕起を行った。さらに隣接する道路との境界に浸透水路を設け、区画外からの雨水の侵入を遮断している。(2)は、数年にわたって作付けを行っていない比較的平坦な 250 m²の圃場を 2 分し、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、不攪乱土を用いた透水性と保水性を測定し、さらに土壌水分センサーを用いて水分動態を観測した。

適地適作が基本の果樹生産では、気候変動への対処方法の一つとして熱帯・亜熱帯果樹の導入が挙げられる。パッションフルーツ国内栽培は高品質な生食用果実生産をターゲットとするが、夏期の低土壌水分が成熟前落果を引き起こす。成熟前落果した果実は、長期追熟による減酸が必須であるが、追熟期間中に萎凋や腐敗による外観品質の低下が問題となる。そこで、成熟前落果したパッションフルーツの長期追熟に対する、エディブルコーティング剤の効果について検討を行った。

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

土壌表面への BSC の形成が、土壌内への雨水の浸透の促進と表面流出および土壌侵食に及ぼす影響について検討した。幅 19 cm、長さ 68 cm、高さ 16 cm の試験枠に砂壤土を充填して、表面に BSC を繁茂させた。また裸地状態の対照区を設けた。BSC 区と対照区のそれぞれに対して、時間降雨量 40 mm の人工降雨を 2 時間与え、試験枠からの表面流出量と土壌内排水量および土壌流亡量を測定して比較した。

3-3 作物の根系発達農法の検討

ソルガムの根は深さ 180 cm まで到達し根を深く展開すると報告されているが、データは多くない（山崎・帰山、1982）。本年度は、根が深さ 100 cm まで生長する根の確認に焦点を置いた。渡辺（2020）の研究で、東京農業大学オホーツクキャンパス内圃場（第 6 駐車場横）の土壌が、深さ 80cm で 2000 kPa に達するほどの硬度となっている。この硬度では、深さ 100 cm まで塹壕を掘ることが不可能であり、十分な調査はなされていない。すなわち、深さ 100 cm までに根が生長していることを確認できなかった。渡辺（2020）が研究で使用したソルガム「ターザン」について、本年度は、津別町の大矢根牧場にて、深さ 100 cm までの根数密度を調査し、農家圃場でのソルガム根系の深さについて観察した。本圃場では、カネコ種苗の品種試験を行っており、試験区のデータを提供して頂いた。また、同社の鈴木職員（本学の卒業生）の仲介により本調査を行うことが出来た。供試品種は、カネコ種苗株式会社のソルガム「ターザン」を用いた。同品種は低温伸長性に優れ、高冷地向け用に開発された品種・草丈 3.5～5 m になる極長稈で、太茎の晩生品種、茎が乾性で乾物率が高く、収穫量が多い耐病性で耐倒伏性にも優れている品種である。貫入式土壌硬度計により、地表から深さ 100 cm までの土壌硬度を調査した。根数分布の調査は塹壕法によって調査し、0～100 cm まで 10 cm ごとの根数密度を観察した。土壌硬度についてはさらに、塹壕法によってできた土壌断面に、山中式土壌硬度計を使用して深さ 100 cm まで 10 cm 毎に 10 ヶ所の測定も行った。

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

誘電土壌水分センサを組み合わせた湛水発生の観測は、目視による観察とよく一致した。また、土壌の吸水度を用いた湛水発生モデルによる判定ともよく一致した (Fig.1)。このことから、湛水発生モデルを用いて、任意の土壌水分量に対する地表面の湛水とそれに続く表面流出を引き起こす降雨強度を推定できることが示唆された。

1-2 窒素流出に及ぼす影響の解明

土壌試料として、これまでに研究例の少ない、透水性の高い有機質土壌を用いた。とくに本年は、土壌中の水の下方浸透を規定する地下水位の設定と、その地下水位を維持するためのカラム下部のフィルターの選定についての検討を行った。草によるマルチを行っている茶園の表層土壌を用いたカラム試験では、保留粒子径 $1\ \mu\text{m}$ の濾紙を用いることにより、地下水位をカラム底面から $22\ \text{cm}$ 、地表面から $32\ \text{cm}$ に維持できることが確認された。しかし、濾紙の一部にしわがでけると排水部に空気が溜まり、排水が停止してしまうことがあった。また実験期間が長くなると、カラム下端からの排水量が上部からの給水量より少なくなり、濾紙が目詰まりを起している可能性も示唆された。この土壌カラムに対して、土壌表層に窒素を含む化成肥料を混合して上から水を流したところ、カラム下部から硝酸態窒素の溶脱が観察された。また試験終了後、カラムを解体して土壌に含まれる硝酸態窒素濃度を測定したところ、硝酸態窒素は塩化物イオンのような他の陰イオンよりも浅い位置でピークを示したことから、表層土壌で硝酸態窒素を生成する硝化反応に必要な時間や土壌中での吸着特性について把握できる可能性が示された。

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

帯広畜産大学の試験圃場において、ラッカセイ圃場を対象に、UAV (通称ドローン) による RGB 画像と NDVI 画像を取得した (Fig.2)。また、同時にラッカセイの生長量の実測データとして草高 (そうこう) を現地で計測した。UAV による画像取得は広域的に使用されるようになったが、作物を対象とした活用事例は多くない。一方、近年では人工衛星による画像が無料で提供されるようになったため、衛星画像の利便性が高い。ここでは、植生被覆率 (Crop cover) について、UAV による高分解能な画像と人工衛星による粗い画像とのデータを比較することで、双方のデータに互換性があるかを検討した。植生被覆率は作物の生長過程を表す指標であり、作物生長モデルにとって重要な入力パラメータである。そのため、両者の整合性を確認することができれば、UAV による画像、人工衛星による画像の双方が作物生長モデルに組み込むことができ、広域的かつ高分解能の作物生長シミュレーションが可能となる。検討の結果、植生被覆率は人工衛星、UAV ともに強い相関を示すことが明らかとなり (Fig.3)、どちらのデータも同等の値として作物生長シミュレーションに適用できることがわかった。今後は、次の課題として植生被覆率を実際の作物生長モデルに組み込み、作物生長シミュレーションの精度検証を行う予定である。

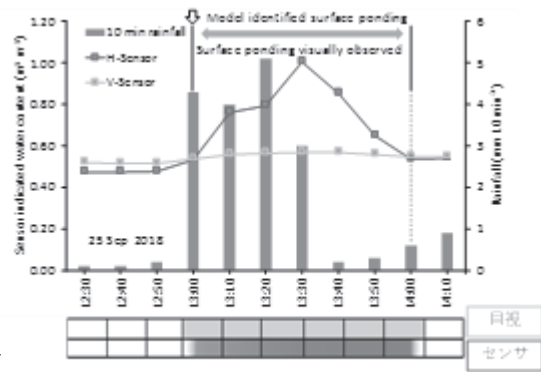


Fig. 1 表面湛水の発生と消失

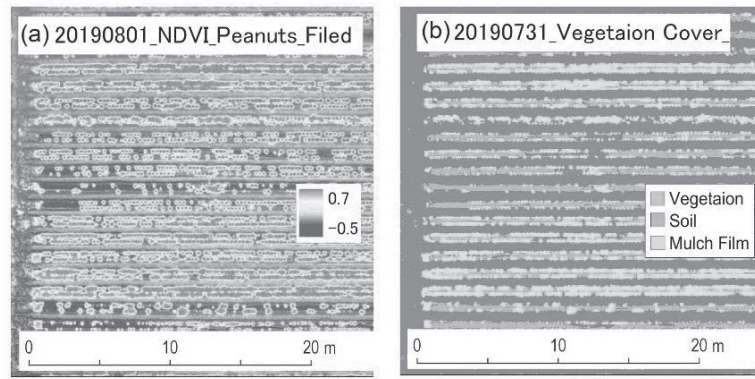


Fig.2 対象圃場の NDVI 画像（左）と RGB 画像（右）

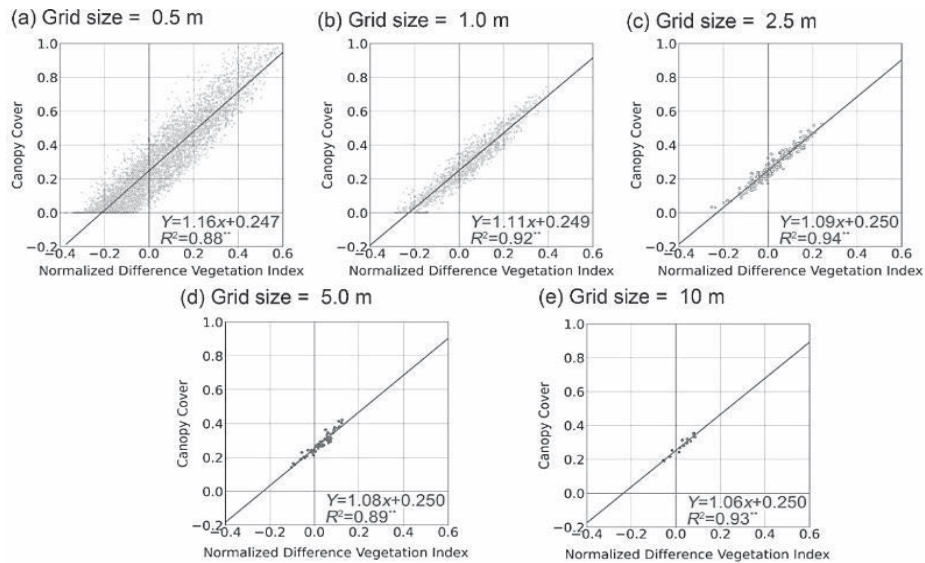


Fig.3 解像度の違いが植生被覆率（Crop cover, Canopy cover）と NDVI の相関関係に及ぼす影響

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

1900～2020 年にかけて、5 月～10 月の総降雨量については長期の変動傾向は見られなかった一方で、降雨日数について、関東・沖縄地方で減少傾向であった。3 日、および 5 日以上連続干天の頻度は、一部の地域を除き長期変動傾向が見られなかったが、7 日以上連続干天頻度は、全国的に増加傾向であった (Fig. 4)。これは、3 日および 5 日未満の連続干天頻度が減少傾向にあることに関連している。さらに関東・沖縄地方において、最大連続干天日数が増加している傾向が認められた。

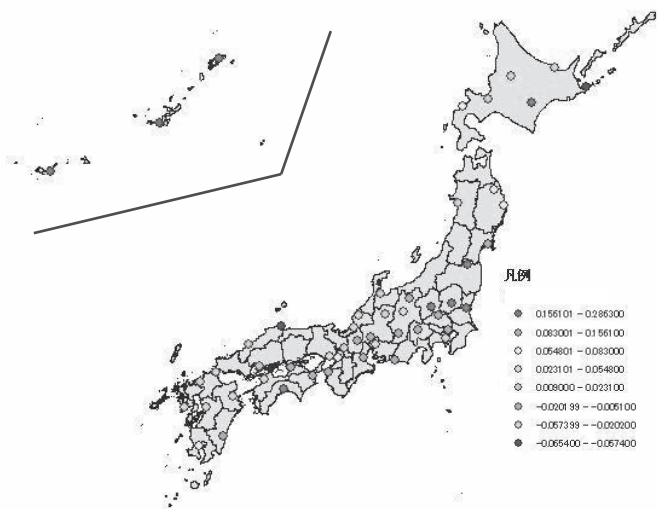


Fig. 4 全国 51 地点の 7 日以上連続干天頻度の変動傾向 (順位相関, 1900 年から 2020 年まで, 5～10 月)

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 傾斜改善の効果検証

傾斜改善前の2019年は、観測期間である8~12月に降雨による表面流出が7回生じたのに対し、傾斜改善後の2020年は、同じ期間中に地表面の湛水や表面流出が全く生じなかった。2019年は台風15号(9月)や19号(10月)による豪雨があるなど、2020年の降雨量が2019年よりも少なかったことだけでなく、ロータリー耕起によって、土壌の浸潤特性が著しく向上したためと考えられる。

3-1-2 心土破碎の効果検証

深さ5 cmと50 cmでは、心土破碎によって飽和透水係数が有意に増加した($p < 0.01$) (Fig. 5)。飽和透水係数の大小関係は、粗間隙率(-63 cmのマトリックポテンシャルにおける空気間隙の体積割合)の大小関係と対応していた (Fig. 5)。易有効水分量(-63 cmと-1000 cmのマトリックポテンシャルに相当する体積含水率の差)は、両区の間でどの深さも有意な差は認められなかった ($p > 0.05$) (Fig. 5)。

深さ5 cmでは無降雨が続いた期間に、心土破碎区と対照区ともに、9月下旬と10月下旬では-100 kPa近傍まで、また11月中~下旬には-100 kPaを下回るまで土壌が乾燥した (Fig. 6)。対照区における深さ20 cmのマトリックポテンシャルは、深さ5 cmと同様に推移して、とくに11月中~下旬には作物の正常な生育に支障をきたす値(-100 kPa)を下回ったのに対し、心土破碎区における深さ20 cmのマトリックポテンシャルの低下は非常に穏やかだった (Fig. 6)。このことから、心土破碎によって土壌の保水性が改善されたことが示唆される。

深さ50 cmと80 cmのマトリックポテンシャルは類似した推移を示した。

2020年9月7日から8日にかけて33.6 mmの降雨があり、10分間降雨強度の最大値は7.8 mm/10分であった。その際、対照区では流出があった一方で、心土破碎区では流出が生じなかった。これは、心土破碎による透水性(排水性)の向上と、Fig. 5で示された心土破碎区の優れた保水性が反映されたものと考えられる。さらに、前節と同様に、心土破碎施工による土壌表面の浸潤特性の増加も寄与したものと考えられる。

また、耕起前後の土壌の浸潤特性の変化を、吸水度を指標にして評価した。土壌の吸水度は、土壌水分量(体積含水率)に依存する。耕起後の吸水度は、いかなる土壌水分量においても耕起前に比べて大きな値を示した。表面流出に及ぼす影響を調べるた

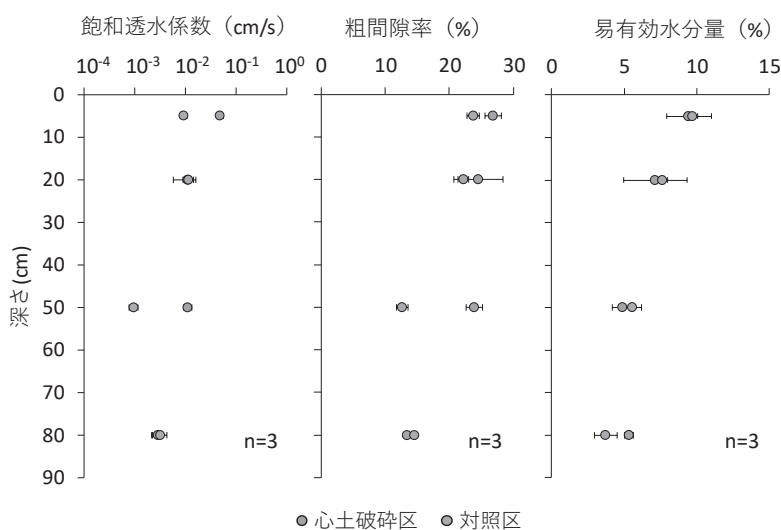


Fig. 5 透水性(左), 粗間隙率(中央), 保水性(右)の比較

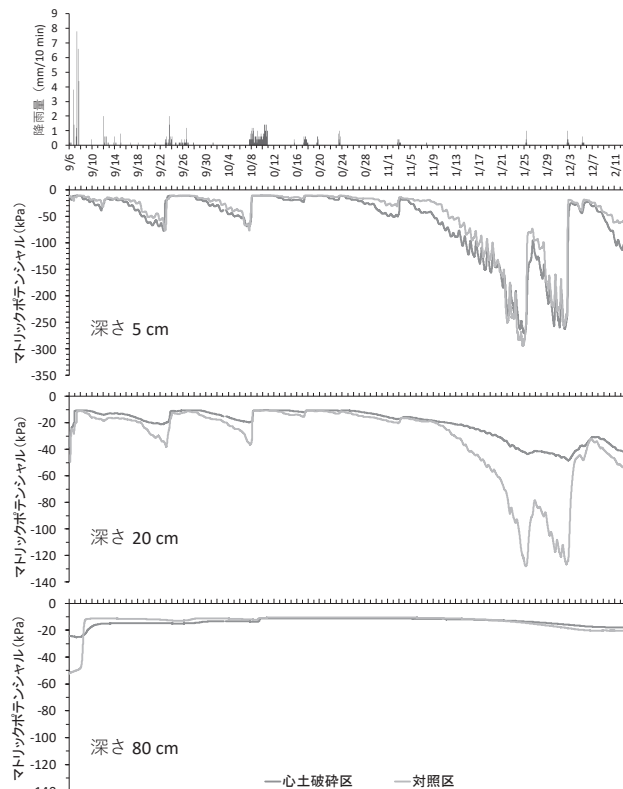


Fig. 6 水分動態

め、圃場容水量に相当する体積含水率に対する吸水度をもとに、地表面湛水とその後の表面流出を引き起こす10分間降雨強度を求めたところ、耕起前では1.6 mmであったのに対し、耕起後は13.4 mmとなった。これは、耕起をしなければ、わずかな降雨でも表面湛水（流出）が起こるのに対し、耕起をすることによって、1時間に80 mm近くの雨であっても雨水が土壤に浸透し、表面湛水（流出）を防ぐことが可能であることを示している。耕起や心土破碎は、極めて一般的な農法であるが、短時間強雨や連続干天の頻度の増加といった気候変動への対応に対しても、大きな意義が認められた。

食品乳化剤をコーティング剤とした果実の処理について、成熟前に落果したパッションフルーツの長期追熟中の品質に及ぼす影響を検討した。ショ糖パルミチン酸エステル処理が、長期追熟中の果実の萎凋・腐食の抑制、減酸の観点から最も有効なコーティング剤であることがわかった。

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

本年度はBSCに関する検討のみ行ったため、その結果について述べる。BSCの繁茂には85日間を要した。時間降雨量40 mmの人工降雨を2時間与えた結果、対照区（裸地区）に比べ、46%の表面流出量の減少、6.3倍の土壤内排水量の増加が認められ、またBSC区の土壤流出量が対照区（裸地区）の1/3に減少した。このことから、土壤葉面へのBSCの形成は、土壤内への雨水の浸透の促進と表面流出および土壤侵食の抑制に効果があることが認められた。

3-3 作物の根系発達農法の検討

両試験区10 a当たりの乾物収量を比較すると、試験区2の乾物収量の方が、試験区1よりも784 kg/a高かった。しかし収量が低い試験区1でも1751 kg/aであり、渡辺の研究結果（633 kg/a）と同等以上であったことから、本研究で栽培された作物の生育状態は良好であったと判断される。

両試験区の土壤は深くなるにしたがって硬くなり、両試験区ともに作土層は硬度が500 kPa以上であり、渡辺（2020）の土壤硬度結果では作土層の硬度が700 kPa以上の層が確認された。また、本試験区の心土層では硬度が1000 kPa未満の層があったが、渡辺（2020）の心土層では硬度が最大で2000 kPa弱の層が確認されたことから、本試験区の土壤の方が硬度が低いという事が推測される。次に根すなわち土壤が深くなり硬くなるにしたがって、根数密度は低くなった。作土層と心土層の根数密度を比較すると、心土層は作土層の概ね半分以下と少なかった。Miyoshi（2009）は、土壤硬度が1000 kPaを超えると、根の伸長が抑制されることを報告している。本年度の実験では、土壤硬度が500 kPaを超えることも無く、深さ100 cmまでに根が伸長することが確認された。ただし、試験区2では石が多く、深さ100 cmまで掘ることが出来なかったために、両試験区で同様のデータをとることは出来なかったが、石の表面に根が張っており、その根は深さ50 cmよりも深くに展開していたと推測される（写真）。本年度の実験ではソルガムの根系が深さ100 cmまでに達することが確認され、農家圃場において心土層まで根が伸長する可能性を示しており、今後、根系分布による土壤物理性の改善を検討して行く価値はあると考えられた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

項目2-1で明らかになった連続干天頻度の全国的な長期変動傾向は、畑作物への灌漑計画の見直しに大いに活用できる。また、同項目で検討した人工衛星による植生被覆率の算出について、実用に耐えうる精度が認められたことから、衛星画像をもとに作物生長モデルを用いた広域的な農作物の品質管理等に有用である。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

項目1：気象・土壤・水ストレスのモニタリングを継続し、土壤侵食が発生する降雨強度と作物生産上リスクとなる環境条件について予備的な検討を行う。また、今年度のカラム試験の条件、特に下部フィルターや

給水量の設定を精査し、より長期間にわたる浸透実験を可能にするとともに、さまざまな土性の試料で安定した下方浸透を作り出すための条件を見いだす。また、実際にマルチなどの管理をモデル化したカラム試験をおこない、それぞれの管理がどのように水や窒素成分の挙動に影響を及ぼすかを解明する。さらに、根の発達を非破壊で継続的に観察し、降雨パターンと根の発達との関係を調査する。気象環境条件をモニタリングしながら数種類果樹の水分状態とその他の生理状態を測定することで、降雨パターンと果樹の生育・収量との関係を検討する。

項目 2 : 前年に引き続き気象データの解析とモデル適用性の検討を行う。項目 1 の結果をモデルに当てはめ、予備的な長期変動傾向の解析を試みる。

項目 3 : 提案されるリスク軽減農法が土壌の理化学性に与える影響を明らかにすると同時に、農法の適応が土壌の水分環境と温度環境、および根の生育に及ぼす影響について検討する。BSC について、表面流出に及ぼす影響について検討を継続する。また、根箱と画像解析ソフトによる根の生育評価に関する試験を、世田谷キャンパス内温室で行い、堆肥の施用方法による根の発達の違いを明らかにする。また根箱を用いて堆肥の施用方法と深さ別の土壌水分量の関係を調査する。

最終的に、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、広域的なリスク評価を試みるとともに、気候変動に適応した農法の提言を検討する。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) KE ZHANG, HIROMU OKAZAWA, YURI YAMAZAKI, KIICHIRO HAYASHI, OSAMU TSUJI (2021) : Relationship between NDVI and Canopy Cover sensed by small UAV under different ground resolution, International Journal of Environmental and Rural Development. (印刷中)
- 2) Shinohara, T., S. Honda, S. Yoshida, K. Oho, D. Igrashi K. Wakui, R. Ohtake and K. Tanaka (2020). Development of Simple Sequence Repeat (SSR) and Morphological Markers to Identify Jaboticaba Cultivars. Tropical Agriculture and Development, 65 (2), 68 - 74.

その他 (学会発表等) 等

- 1) KE ZHANG, HIROMU OKAZAWA, YURI YAMAZAKI, KIICHIRO HAYASHI, OSAMU TSUJI(2021) : Relationship between NDVI and Canopy Cover sensed by small UAV under different ground resolution, The 12th International Conference of Environmental and Rural Development, 6 March 2021, Online conference.
- 2) 鈴木伸治 (2021) : 近年の降雨パターンの変化が農地と作物に及ぼす影響についての速報. 令和 2 年度横浜市環境保全型農業研修会講演、2021 年 2 月 2 日、横浜市開港記念会館.
- 3) 柴生成・篠原卓・五十嵐大造 (2021) : パッションフルーツにおける成熟段階と着果負担の違いが果汁のカロテノイド含量および成分組成に及ぼす影響. 日本熱帯農業学会第 129 回講演会、オンライン講演会、2021 年 3 月 16 日.

2020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 本間 和宏

1. 研究課題名および予算額

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

2. 研究組織

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

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

玄米にはミネラル、ポリフェノール、ビタミン類、GABA、γ-オリザノールなどを中心とした栄養成分と機能性成分が多く含まれる。本プロジェクトに先立ち、玄米が肝臓での脂質代謝を改善し、脂肪蓄積を顕著に低下させることを辻井、鈴木らを含む研究グループが見出した（日本食品保蔵科学会誌、2016, 42 巻, pp. 3-8）。しかしながら、現代の日本人の玄米摂取量は極めて少なく、玄米を主体とした食生活の実現は一般食用米では難しいという課題がある。一方、齋藤らは鉄欠乏性貧血を発症している現代人の鉄栄養状態の改善を目的に、イネの突然変異体集団から鉄分や微量必須ミネラルを高集積する系統を選抜した（東京農業大学総研戦略プロジェクト 2015 年）。さらに、これらの高ミネラル系統とポリフェノール、ビタミン、GABA 等の機能性成分を高集積する紫黒米「朝紫」を交配したところ、両親系統の特性を様々な割合で併せ持つ多数の後代を得ることに成功した。これらの選抜を繰り返すことで、目的に沿った「栄養強化米」が作出できると考えられた（図 1）。

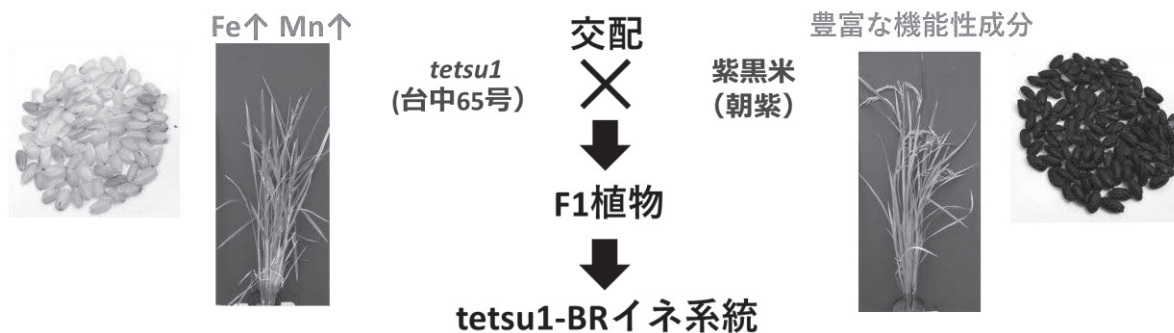


図 1. *tetsu1* 突然変異株と紫黒米の交配による *tetsu1*-BR 栄養強化米の作出

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

そこで、応用生物科学部で独立に進められていた米に関連する幅広い研究分野を融合することで、栄養強化米を原料とする多様な加工食品、発酵食品、保存食、健康食品の製品開発まで見据えることにした。これにより、農場から食卓（Farm to Table）、さらに食卓から体内の健康（Table to Body）のすべての過程がつながったこれまでにない分野横断型の学術研究を実施できる。本プロジェクトで開発した栄養強化米やその関連製品は、生活習慣病や鉄欠乏性貧血の予防や改善に効果があることを検証した上で、東京農大ブランド製品として広く社会貢献に役立てることをゴールとした。

5. 研究目的

ここまでの2年間で栄養強化米が動物体内の代謝に与える有用効果についても明らかにしつつある。一方で、

イネ*tetsu1*原因遺伝子の解明、品種登録、圃場で安定した鉄集積や増収を可能とする栽培体系の確立、栄養強化米を利用した商品の多様化についてはさらなる解析を必要としていた。そこで、この最終年度では昨年度までの研究で新たに判明した課題の解決とともに、栄養強化米の純系化や栄養強化米を素材にした食品・飲料の開発を進めることとした。併せて、それら栄養強化米を含む食品の機能性の評価や官能試験を行い、市場価値が十分に期待できる商品が開発できていることを確認することとした。これらの過程では企業や農業試験場との連携を深め、品種登録や特許申請に必要な追試験や補助データを集め、最終ゴールである実用化を目指した。

6. 研究（実験）方法

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

栄養強化米の品種化に向けて世代促進栽培を前年度から継続して実行する。また品種化に必要な具体的な方針を確立する。一方、昨年度の圃場試験の結果から、栄養強化米の玄米中の鉄集積は登熟日数や、窒素肥料の施用量が関係する可能性も示唆された。これを踏まえて、本年度は栄養強化米の収穫時期による鉄含量への影響や、適切な窒素施肥の検討も併せて明らかにしていくことにした。また、前年度の次世代シーケンサーを使用したジェノタイピング解析により、栄養強化米の原因遺伝子が第一染色体長腕数Mbにあると推定された。このゲノム内の候補領域をさらに絞り込み、原因遺伝子を特定するために、前年度の予備実験を踏まえてさらに多数のF₂植物で本格的なジェノタイピング解析を行った。

● 栄養強化米の純系化ならびに品種化（齋藤）

栄養強化米を純系化するために年2回栽培し、イネを自殖により世代を促進する。使用した系統は、前年度に引き続き、栄養強化米の中で栽培特性が優れているC1系統、A5系統、A3系統、I6系統として、2世代の世代促進を行った。栽培は東京農大・植物生産化学研究室のガラス冷暖房温室ならびにPIP閉鎖系温室を使用した。また、品種の育成者権を東京農大に帰属させる必要があり、農生命研究所ならびに知的財産アドバイザーと打ち合わせを行い、どのように品種化を進めるか具体的なロードマップを検討した。

● 鉄含量および収量を高める圃場栽培方法の検討（大島）

本年度は新たに千葉県香取市の早場米生産者の水田で栄養強化米C1系統、A5系統およびコシヒカリを用いた栽培を実施した。4月中旬定植、9月中旬に収穫した。収穫期には定期的に稲体を採取し、玄米中の鉄含有量の変化も明らかにすることにした。また、長野県松川村において、栄養強化米のA5系統を用いて窒素施肥量の違いが水稻の収量・品質に及ぼす影響を明らかにすることにした。試験系統に対して、窒素施肥量を標準量（コシヒカリと同等水準）、1.25倍量、1.5倍量および2倍量施用した4水準を設け水稻を栽培した。5月中旬に定植、9月下旬に収穫した。栽培地域の違いによる品質への影響も解析することにした。本試験で栽培した栄養強化米は収穫後に東京農大に運び、冷凍炊飯作成や加工に利用した。

● 登熟過程の鉄集積速度ならびに部位ごとの鉄分配様式の解析（齋藤）

鉄含量を安定的に高めるためには、栄養強化米の収穫適期を明らかにする必要がある。そこで、栄養強化米の親品種「朝紫」、「台中65号」に加えて、C1系統、A5系統、A3系統、I6系統を栽培し、開花後の穂を経目的に収穫して鉄の蓄積量の変化を追跡した。また、収穫期の稲体を解体して、茎、節、各葉の葉鞘と葉身、穂軸、籾殻の鉄含量を解析した。

① 試験系統および栽培方法

殺菌種子を湿らせたキッチンペーパー上に播種した。人工気象装置（バイオトロン、NKシステム）にて24℃の条件で発芽・発根させた。第1葉が1 cmほど生育したところで土耕栽培を開始した。栽培場所は東京農業大学・植物生産化学研究室・ガラス冷暖房温室（自然光、28℃±5℃）の環境で、36穴セルトレイ（寸法285 mm×285 mm×45 mm）に合成粒状培土ボンソル1号（住友化学）を入れ、水受けトレイの中で底面灌水にて生育させた。2週間ほど栽培した後、栽培ポット（1.9L容・スリット型鉢CSM-150L、1/6000 a）に、鉄力あぐりB10（愛知製鋼）を13.5 g入れて混和した合成粒状培土ボンソル1号1.5 kgを入れて移植を行った。栽培期間中は日照をそろえるためにランダムに配置換えを行った。7月28日に尿素（2.0 g）、マグアンプK（2.3 g）を追肥した。2020年10月上旬まで栽培した。

② 収穫と鉄の解析

開花日は穂内の3分の2の穎花が開花した日に設定した。玄米の登熟ステージごとに（図2）、開花日から数えて7日、10日、14日、20日、30日、40日目の穂を各系統から採取した。採取した穂は80℃で一晩乾燥させた後、大きさが揃った穎花を回収し、籾と乾燥種子（玄米に相当する部位）に分けて解析した。籾と玄米はそれぞれ穎花10個分で1連として各日程で3連の試料を作成した。鉄の分析は、定法に従い、硝酸分解後に鉄含量を原子吸光分析法にて解析した。

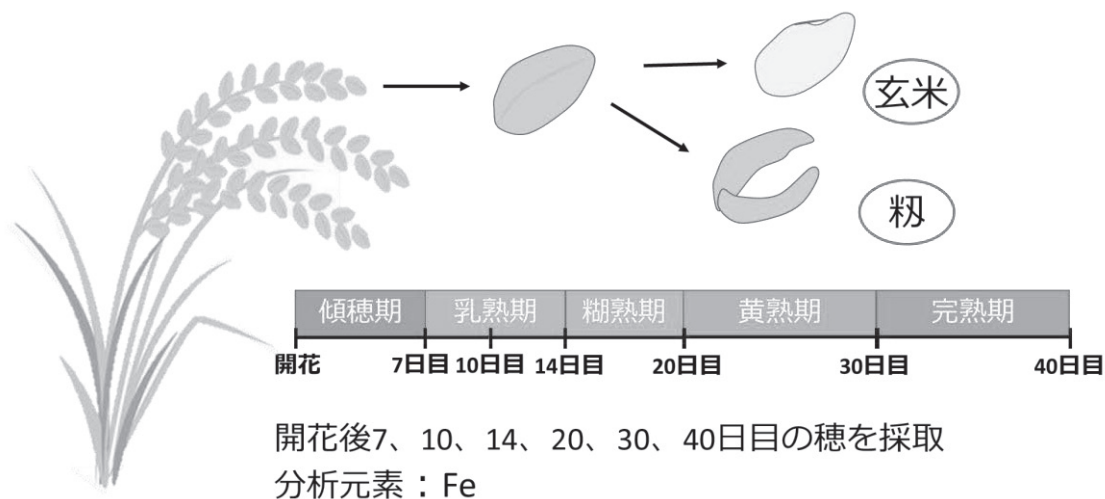


図2. 開花後のイネ穎花の収穫日程の概略図

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

昨年度、*tetsu1*変異株と朝紫の雑種F₂系統を用いた小規模のGRAS-Di解析により、候補領域を第1染色体の数Mb内に絞り込んだ。今年度はこれを踏まえて、新たにF₁種子を5月に播種し、数千粒以上のF₂種子を9月に収穫した。このF₂系統から*tetsu1*型の高鉄イネと朝紫型の低鉄イネを40個体以上選抜し、親系統各3連の合計96サンプルでGRAS-Di解析を実施した。得られたデータで連鎖解析を行い、候補遺伝子の座する領域を特定した。

解析に用いたゲノムDNAは、イネ最新展開葉0.5gを採取し、液体窒素下で乳棒、乳鉢で粉碎し微粉末とした後、DNeasy Plant Mini kit（QIAGEN）にて抽出し、エタノール沈殿法により精製した。ジェノタイプング解析はEurofins社に委託し、GRAS-Di解析にて実施することにした。本方法はゲノムDNAに対してランダムプライマーでPCRを行い、ゲノムワイドに増幅したアンプリコンをHi-Seq2500（イルミナ社）にて解読し、*tetsu1*型の高鉄イネにのみ特徴的なアンプリコンのパターンを解析するものである。その後、GRAS-Di解析のデータで絞り込まれたQTL領域で変異のある遺伝子候補を探索した。

【Table 編：栄養強化米の精米法・加工法の確立(辻井、鈴野、井上)】

2年目の解析で、通常玄米と栄養強化米を用いて浸水時間、洗米回数およびとぎ方の強度から適切な洗米方法を検討したところ、洗米後も栄養強化米は鉄を多く保持していることを確認した。今年度は昨年度に引き続き、洗米によるミネラル損失量に関して鉄以外のミネラルも含めて追試験を行う。また、本年度栽培した栄養強化玄米および精白米を用いて洗米によるミネラル流出量の測定を使用し、栄養強化米の一定のミネラル保持量について再現性を確保する。さらに、昨年度作成した α 化玄米に加えて、東洋ライス株式会社の協力のもと、亜糊粉層と胚芽を残す精米技術を利用し、鉄分などの栄養価を高く保持できるロウカット玄米の作製を試みる。加えて、東洋ライス株式会社に作製を依頼したレトルト米を用いて、栄養強化米と通常玄米における鉄保持量の違いについて比較検討を行った。このような炊飯前後の工夫により、栄養価を維持しつつ、ミネラルの吸収を阻害するフィチン酸がどの程度まで低減するか調査することにした。

● 洗米行程における栄養強化米中ミネラル残存量に関する検討 (井上)

洗米過程でミネラルを含む栄養素がとぎ汁として流出することが分かっているため、洗米前後での米中ミネラル残存量について検討を行うことを目的とした。具体的な方法として、通常玄米および栄養強化米を各々50g取り出し、ビーカーに加え、超純水を100 mL加え、一定回数かき回すことで洗米とした。その後、とぎ汁をメッシュにてろ過し、再度、超純水を100 mL加え、一定回数かき回した、本工程を5回繰り返す、最終的に残った各玄米を灰化し、原子吸光高度計にて残存鉄濃度を測定した。なお、本試験では一般水(水道水)ではミネラル変動が非常に大きく、再現性がとることができないため、超純水を用いて洗米試験を行った。

● 炊飯米の消化効率の検討 (井上、大島、齋藤)

本年度収穫した栄養強化米(A5、C1)と対象群であるコシヒカリ玄米を一般の炊飯器で炊飯した(上述の方法)。その後、炊飯米の口腔内消化をアミラーゼ溶液、胃内消化はペプシン溶液を用いて玄米の形状(見た目)、消化効率および遊離鉄を測定した。使用した炊飯器は象印社のNL-BU05を用いた。具体的な方法は以下に示す。

① アミラーゼ試験

炊飯米を10g定量後、超純水を加えながら粥状になるまですりつぶし、メスフラスコにて100 mLに定量した。その後、緩衝液に定量したサンプルを加え、37°Cで10分間プレインキュベートし、アミラーゼ溶液を加え、5分、15分、30分と反応させた。この反応溶液にヨウ素デンプン反応によるデンプン残存量から口腔内消化率を算出した。また同時に各時間における遊離鉄量についても測定した。

②胃酸消化試験

炊飯米を50g取り出し、80mLの人工胃液(組成: NaCl 2.0 g, ペプシン 4.0 g, HCl 7.0 mL)を超純水1Lに希釈したものを加え、37°C、3時間ゆっくり振盪反応させた。その後、吸引ろ過法ならびにスレンレス篩を用いて残渣を取り除き、反応溶液中の遊離鉄量を測定した。また振盪反応後の玄米の形状についても記録した。

● 冷凍米飯における鉄保持量の検証 (井上、齋藤、辻井)

本年度収穫した栄養強化米(A5、C1)と対照群であるコシヒカリ玄米について、東洋ライス株式会社より冷凍米飯にして試作品を完成させた。そこで実際に大量調理した場合にも、栄養強化米が通常玄米よりも鉄保持量が高いことを確認するために、それぞれ包装の異なる冷凍米飯を灰化し、鉄量を測定した。

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

初年度に行った動物試験(鉄欠乏動物試験および糖尿病モデル動物試験)のサンプルを用いて生化学的分析、CE-MSを用いた解析結果の追試験および諸臓器におけるミネラル貯蔵量について原子吸光系を用いて測定する。また、本年度に新たに収穫する栄養強化米を用いて動物試験を追試する。加えて、昨年度の結果より、栄養強化玄米摂取することでアルカロイド類であるトリゴネリンが肝臓および血中で検出されたが、トリゴネリンが持つ生理機能については十分明らかにされていない。そこで本年度はトリゴネリンの新たな生理機能を明らかにすることを目的とし、抽出物とトリゴネリン生成物を用いて脂肪肝および細菌毒素に対する抗炎症作用の検討を行う。

● 栄養強化米による肥満性脂質の改善効果の検証(鈴木、相澤)

生活習慣病、特に肥満による脂肪肝の予防効果を検討するために、肥満モデル動物としてレプチン受容体遺伝子の変異を起因とし、過食による肥満を示すZucker fattyラットを用いた。Zucker fattyラットに基準食であるAIN93Gを与えたCTL群、AIN93Gに含まれるコーンスターチを α 化キヌヒカリに置き換えたキヌヒカリ(キヌ)群、同様に α 化*tetsul*-BRで置き換えたI6群、さらに、Zucker fattyラットのコントロールとして、過食を示さないZucker leanにAIN93Gを与えたLean群を設定し、5週間飼育を行った。解析項目として肝臓中のトリグリセリドおよび総コレステロール、また肝障害マーカーとして血清中のASTやALTを解析した。また、肝臓中のメタボローム解析においては、共同研究先の慶應義塾先端生命科学研究所・曾我朋義教授により、CE-MS(イオン性化合物)の分析を行なっていただいた。

● 栄養強化米による鉄欠乏性貧血に対する改善効果の検証(井上)

ICR雄性マウスに基準食であるAIN93Gを与えたCTL群、鉄を含まない試料と与えたID群を設定し、3週間の飼育観察を行った。その後、ID群を3つのグループに分け、鉄を含まない試料を摂取したID群、 α 化キヌヒカリに置き換えたキヌヒカリ(キヌ)群、同様に α 化*tetsul*-BRで置き換えたI6群を設定し、10日間の栄養強化米による鉄レスキュー試験を行った。

各群5~6匹となるように群分けを行った。飼育期間終了後の解析項目として、試料中の鉄含有量、最終体重および総摂食量に加え、鉄欠乏マーカーである血中ヘモグロビン濃度、血清鉄、鉄結合能(TIBCおよびUIBC)、組織中鉄濃度(肝臓)、心臓重量および脾臓重量を測定した。また鉄欠乏はそのほかミネラルバランスを変動させることが知られている。そこで肝臓中の鉄濃度に加え、亜鉛と銅量についても測定した。これら鉄欠乏マーカーに対するパラメーターの変化から鉄欠乏性貧血が改善しているかを判断した。

● 栄養強化米中成分トリゴネリンの抗炎症抑制効果の検証(相澤、井上)

オミクス解析より栄養強化米I6中には、植物アルカロイドの一つであるトリゴネリンが含まれていることを見出した。また、動物試験から栄養強化米を摂食したラット肝臓および血中でトリゴネリンをCE-MSにより検出した。先行研究から、トリゴネリンはアルツハイマーや動脈硬化疾患に効果があるとの報告があるが抗炎症能を有するかは明らかではない。本試験では、トリゴネリンが抗炎症能を有するか否かを明らかにするため、大腸菌由来リポポリサッカライド(以下、LPS)を炎症誘導剤として用いて検証を試み、更なる栄養強化米の高付加価値化を目指した。

【Products development編:栄養強化米を使った食品・飲料の開発（辻井、門倉、梶川、岡）】

栄養強化米の栄養素(主にミネラル)を損失せずに、新たな菓子、米粉製品、お酒（酒・酒粕・甘酒といった麹発酵による各種製品）といった加工品の開発を進めた。また、栄養強化米を用いて発酵させたお酒の施策を行った。加えて、奄美大島などで見られるコメの発酵食品ミキをモデルとし、ミキ由来乳酸菌株について、発酵性、保存性、健康に寄与する機能性を評価した。

● 熱風乾燥米の作製（辻井）

熱風乾燥米は保存性が良く、お湯を加えることで食することができるインスタントライスであり、非常食や即席米として販売されている。炊飯に比べ調理時間も早く、常食として普及できる可能性がある加工品である。前年度、アルファード食品株式会社と共同で30kgの試作を行い、栄養強化米で熱風乾燥米を作成する方法は確立している。そこで、今年度も同様の方法でアルファード食品株式会社に製造を委託し、サンプルの確認を当研究室にて共同で行った。作成した熱風乾燥米は上述の動物試験に使用した。

● 高付加価値化の搗精方法の検討、及び冷凍米飯の製造検討（辻井、鈴野、岡）

栄養強化米の機能性を活かすためには、玄米で摂取することが最も効率的である。しかし、稲の種子である玄米は、生育条件が整うまで吸水して発芽しないよう防水性の高い層（＝ロウ層）で覆われている。ロウ層は、精米するとヌカと共に除去されるが、玄米のままだとこのロウ層も一緒に食べることになる。このロウ層が、食べにくい、簡単に炊けない、消化性が悪い、といったデメリットにつながる。この問題を解決するために玄米表面にある硬く防水性の高い「ロウ層」の除去を検討した。

通常搗精法による精白米化では、デンプン層のみとなり、食べやすいがビタミン類、食物繊維および糖脂質などの栄養素が少なくなってしまう。そこで、栄養成分と旨み成分が多い「亜糊粉層」と胚芽の基底部を残す方法を検討した。亜糊粉層は、デンプン層とヌカ層の間にある厚さ数ミクロンの層で、上質な甘味、旨味の元となる糖類を作る酵素が含まれている。

核家族化、単独世帯の増加に伴う個食化、女性のさらなる社会進出などのライフスタイルの変化に伴い、近年家庭では男女を問わず、家事の負担軽減および簡略化が求められるようになった。主食である米飯を冷凍保存し、電子レンジを用いて解凍する冷凍米飯の活用は、調理時間短縮および簡略化を代表することで家事負担の軽減の代表例として挙げられる。冷凍することで、品質劣化を抑え、2週間～1ヶ月と長期間保存することができ、電気代の節約などメリットもあることから、冷凍米飯の試作製造を検討し、官能評価アンケートを行った。

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

加工食品に関しては、昨年度、揚げ煎餅の試作の他、米粉製品への利用を目指し玄米粉の加工を行ってきた。今年度はその玄米粉を使用し米粉パンの試作を行った。なお、玄米粉を使用したパンにおいては玄米臭が際立ち嗜好的に劣ること、焼成後のパン比容積が低くなり硬くべちゃつくパンになり易いため、玄米臭軽減を目的にサワー種を使用し、製パン性を考慮しハードタイプのサワーブレッドを試作した。試料には栄養強化米A5の玄米の利用を目指すため、比較試料としてA5精米およびコシヒカリ精米を用いた。試作したパンは官能試験の他、パン比容積の測定を行った。また、玄米臭軽減の他、嗜好性を高めるためにラズベリーおよびクルミ入りのサワーブレッドも試作し嗜好調査を行った。

● サワーブレッドの官能評価（鈴野、岡）

コシヒカリ精米添加パンを基準試料として、A5玄米およびA5精米添加パンの外観（色、キメ）、香り（鼻で嗅いだ時、食べた時）、テクスチャー（硬さ、しっとり感、歯切れ）、味（甘味、塩味、酸味、雑味、後味）の評価を分析型および嗜好型の7段階評点法（-3～+3）にて評価を行った。また、各パンにて総合評価を行った。なお、パネラーは本学の学生20名にて実施した。

● 栄養成分強化米A5とC1の官能評価（鈴野）

米飯食味は、消費者が食べて判断するものであるため、人間の感じ方を基準としつつ科学的に食味を決める官能検査法（食味試験）で評価するのが基本となる。ただし、安易に人間の感覚を基にしてしまうと、人それぞれの好みによって主観が入りやすいので、広く通用する食味の決め手にはなりにくいおそれがある。そこで試食する米飯の組合せ、試食の順序、温度、感覚の馴れと疲労のような問題を統計学と心理学にもとづいて整理し、組合せることで、どの米飯にも同じ条件が公正に与えられるように実施する。これにより、試食者の判断の偏りを防ぎ、人の主観を十分に除くように計画された官能評価が可能になる。本年度はこうした点に留意して、栄養強化米A5とC1の米飯の官能評価を行った。

● 栄養強化米を用いた日本酒の試作に関する検討（門倉）

最終年度も酒・酒粕・甘酒といった麹発酵製品の作成も試みた。玄米を利用すれば栄養素を保持した酒類製品や、有色米を生かしたカラフルでユニークな製品開発が期待できる。実際、昨年度の結果より、アルコール濃度15～19%の玄米日本酒の製造が可能であることがわかった。特徴として、栄養豊富な玄米を使用するため酵母による発酵が早く、日本酒度が+となる辛い酒となったが、栄養素（特に鉄）を保持できているのかについては不明であるので栄養価を残したお酒作りである観点からも順次、ミネラル分の解析を行った。また、玄米を使用することにより発酵が早く辛い酒となるため、甘酒四段仕込を行うことで発酵日数の再検討を行い、玄米日本酒の呈味の調整を行った。

栄養強化米を用いた総米330gの水麴を用いた甘酒四段仕込を行った。麴歩合23%、汲水歩合140%、最高品温15℃とし、アルコール濃度17～18%を目処に甘酒四段を行い上槽して、呈味を調整した鉄分を含む玄米日本酒の製造が可能であるかを検討した。尚、掛米は栄養強化米の玄米を使用した。麹については精米歩合70%の美山錦を用いた。

● ミキ由来乳酸菌株を用いたコメ発酵飲料作製方法の検討（梶川）

栄養強化米を使用したコメの乳酸発酵飲料の作製を試みる。この際、機能性をもった乳酸菌を利用することによって付加価値が期待できるため、ミキ由来乳酸菌株の中から、発酵に適した菌株を選抜し、コメ発酵飲料の製造方法を検討する。

市販あるいは製造者から提供されたミキから分離された乳酸菌40菌株について、コメの発酵性試験、安全性（抗生物質耐性試験、溶血活性試験）、免疫学的活性（RAW264.7細胞刺激によるTNF- α 産生誘導）を指標として選抜を行った。最終的に候補として残った菌株をスターターとしてコメ発酵飲料を作製し、飲料中での増殖菌数やpHの測定、発酵終了後の冷蔵保存期間中におけるコンタミネーションチェックを行った。

7. 研究成果

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

● 栄養強化米の純系化の完了(齋藤)

2020年度春の時点で栄養強化米は、白米モチ型I6系統がF₇、白米ウルチ型A3・紫黒米型A5・白米モチ型C1の3系統はF₅であった。これらを2020年度の夏期に栽培した後、冬季に2回目の栽培を行った。この世代促進栽培の過程では、世代内での形質と鉄含量を確認した上で、1つの選抜種子から次世代を確保した。これにより、完全自殖でいずれの系統もF₇以上となり(表3)、理論上、ゲノム内の99%以上の遺伝子でホモ接合型の状態になった(表4)。また、A5系統のF5世代(ヘテロ性を有す)の中に、大型で多収性が期待できる白米型系統を発見した。この系統の種子を選別し、粳と糯の2系統を分離して、それぞれに「A5白粳」および「A5白糯」と名付けた。いずれもすでに開発したI6やA3に比べて個体サイズが大きく、分けつ数も多い傾向にあるため、栄養強化米のさらなる収量増加に期待できる。これらA5白粳とA5白糯はF6種子として確保しており、2021年度中にF8種子まで自殖を行って純系化させる方針である(表4)。各系統の表現形質のうち、生育特性(出穂期、開花期、登熟期)(表5)ならびに種子形状(糯、粳、白米、黒米)は系統内の全種子で完全に一致した(図2)。また、純系化が完了したいずれの系統でも顕著な鉄高集積性を維持しており、鉄栄養強化の性質は安定的に子孫に引き継がれていることも確認した(図3)。以上の通り、栄養を多く含むイネ新品種化を目指した本プロジェクトの目標に沿った形で、本年度は実用系統が複数確立できた。

表3. 栄養強化米の系統記録

年次	2010	2011	2012	-----	2015	2016	2017	2018	2019	2020
世代	TCM集団 M2	M3	M4		原交配	F1 F2	F3	F4	F5 -F6	F7 - F8
選抜概要	一次選抜	二次選抜	tetsu1選抜		<i>tetsu1</i>	世代促進	系統	穂別系統	世代促進	世代促進
育成系統図					×					
					朝紫					
選抜数	2704	158	8				124	14		

※ *tetsu1*変異体はNBRPより提供された2704株のT65変異株(TCM集団)の中からスクリーニングした。

※ 朝紫は種苗会社野口のタネより購入した。

表4. 栄養強化米のホモ接合度

世代	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉
ホモ接合の割合 (%)	98.4	99.2	99.6	99.8
該当系統	・ A5 (白粳) ・ A5 (白糯)	・ A5 (黒粳) ・ A3 (白粳短稈) ・ C1 (白糯短稈)	—	・ I6 (白糯)

表5. 各系統の生育特性（生育期間）

	播種日	定植日	穂ばらみ期	出穂日	出穂期	登熟期	栽培日数	草型	
朝紫			7/11~8/3	7/29	8/3	8/3~9/2	73	早生	
台中65号			8/3~8/29	8/21	8/29	8/29~10/8	109	晩生	
tetsu1-BR	A-3	5月17日	5月22日	7/23~8/14	8/10	8/14	8/14~9/23	94	中生早
	A-5			7/27~8/18	8/14	8/18	8/18~9/27	98	中生
	C-1			7/20~8/14	8/7	8/14	8/14~9/23	94	中生早
	I-6			7/31~8/21	8/18	8/21	8/21~9/30	101	中生晩

※ 栽培場所は東京都世田谷区東京農大・植物生産化学研究室・冷暖房温室（28±5℃）自然光 ポット栽培

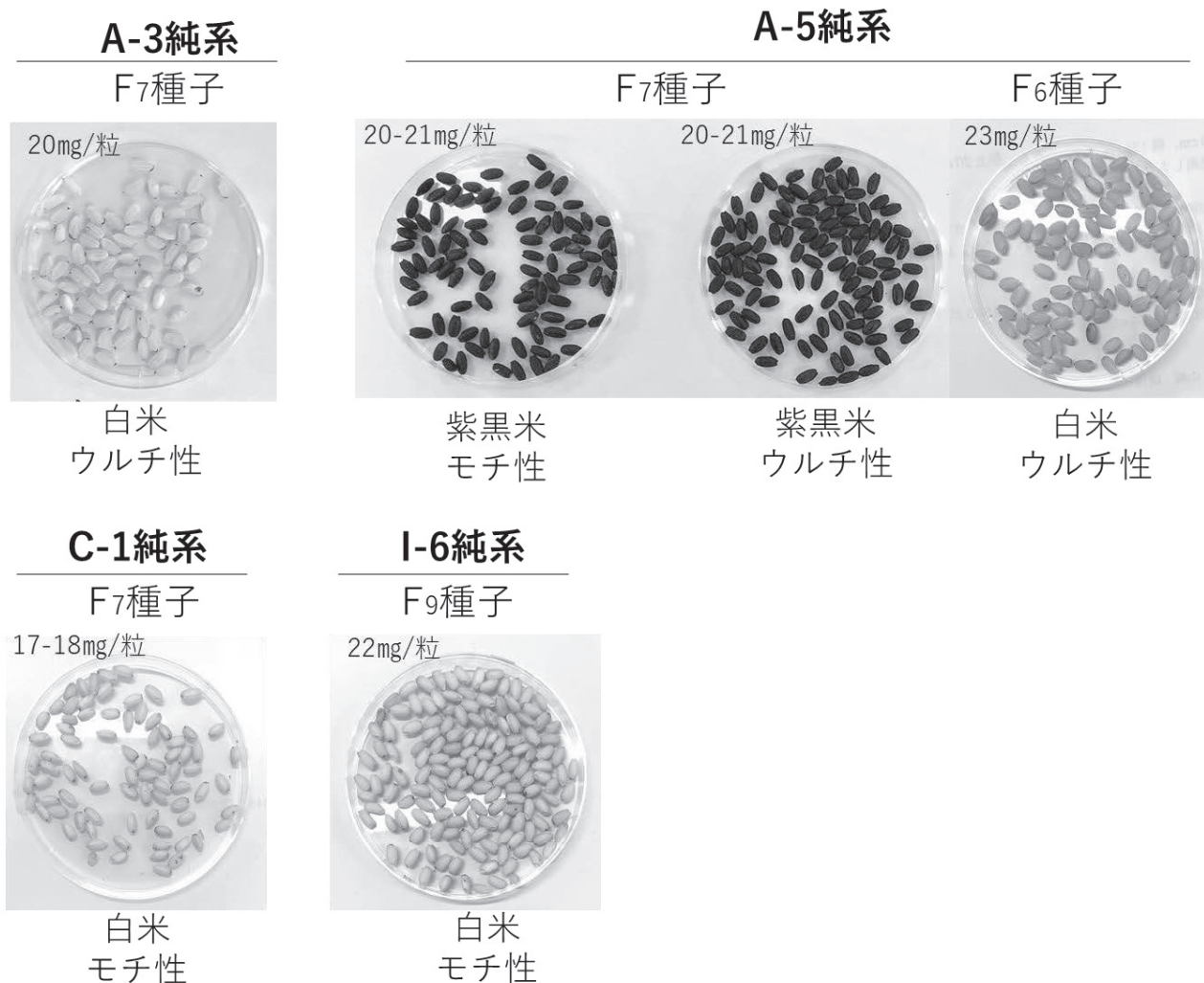


図2. 純系化した栄養強化米の玄米外観

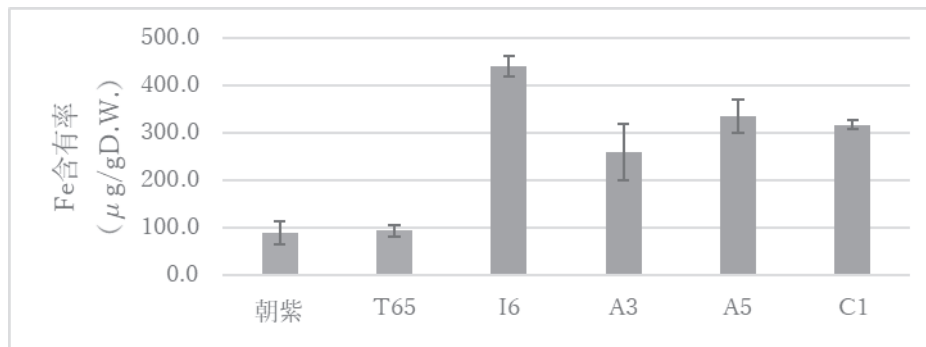


図3. 栄養強化米（純系）の各系統の藁の鉄含量 (N=3)

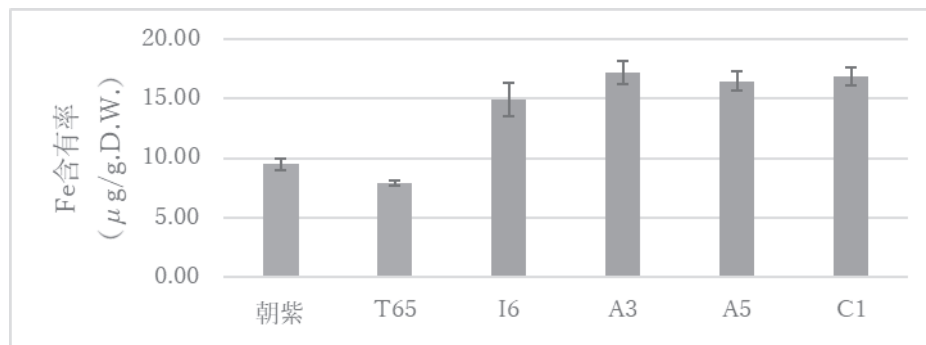


図4. 栄養強化米（純系）の各系統の玄米の鉄含量 (N=3)

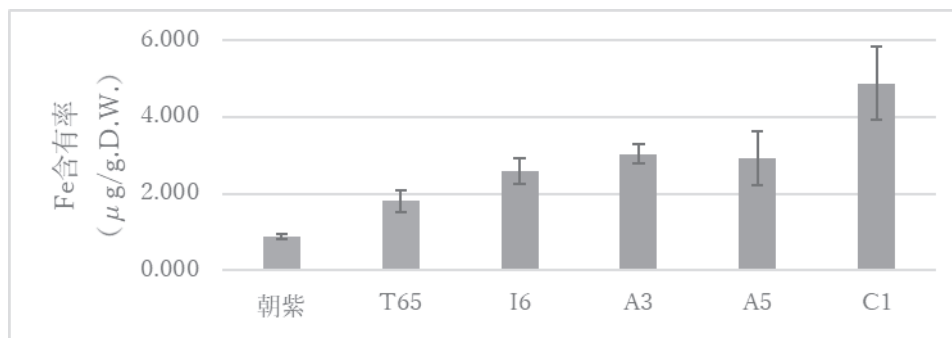


図5. 栄養強化米（純系）の各系統の精白米の鉄含量 (N=3)

● 栄養強化米の品種化に向けた手続き

新品種の登録は農林水産省食料産業局知的財産課にて行われている。この品種登録には、開発した作物の「区別性、均一性、安定性、未譲渡性、名称の適切性」の5点について適正か判断され、審査を進めることになる。

以下の通り、これら品種登録に必須な5項目について、必要な条件はすべてクリアしている。

1. 区別性：

区別性とは、公然と知られた品種（既存品種）と重要な形質で明確に区別できることを指す。この点に関しては、上記の通り既存品種にはない鉄高集積性を示すことから、明確に既存品種と区別できる。このほか、高いアントシアニン含量、糯性、粳性、早生、晩生といった複数形質にそれぞれの系統の特徴があり、互いに容易に区別ができる。また、ゲノムレベルにおいても台中65号と朝紫の交配後代で品種化されている例はないため、今後DNAマーカー情報を調べることで既存品種と容易に区別可能と考えられる。

2. 均一性：

均一性とは、同一世代でその形質が十分類似していることを指す。栄養強化米は、同一の種子集団からは同じ形質の個体が生じており均一であり問題ない（表3、図2）。

3. 安定性：

安定性とは、増殖後も形質が安定していることを指す。前年度からF₇世代以上に達している全系統で、それらの形質は安定しており、世代を超えて鉄高集積の形質やそのほかの特性が維持されているため問題ない（図3～図5）。

4. 未譲渡性：

未譲渡性とは、出願日から1年遡った日より前に、出願品種の種苗や収穫物を譲渡していないことを指す。栄養強化米は、過去に他者へ譲渡したことはない。ただし、今後は企業に原材料として米を提供し、商品開発を検討している。この点で、種もみとしての譲渡にならないように契約を交わす必要があり、農生命研ならびに知財アドバイザーに相談をしながら進めている段階である。

5. 名称の適切性：

名称の適切性とは、品種の名称が既存の品種名称や登録商標と紛らわしいものでないことを指す。現在開発中の *tetsu1-BR* は品種名ではなく、開発名称であるため、品種化の際に適切な名称に変更をする。申請段階で適したものを知財アドバイザーと相談しながら柔軟に決定する。現在、A5黒粳、I6の2系統を品種登録のため圃場で形質調査を実施している。また、A3、C1、A5黒糯については民間企業への提供を視野に、農生命研に契約手続きを進めていただいている段階である。

本年度、上記の点を踏まえて農生命研究所知財アドバイザーに品種化の方針を相談したところ、品種化を実現するためにはまずは2年間にわたり85項目の特性について圃場調査する必要があることが分かった。具体的に85項目の検定方法を調査した結果、この検定作業では専用設備ならびに経験に富んだ人材の協力が必要であることが分かった。

これらに関して、現時点では東京農大では専用設備やノウハウがない。このため、次年度以降、植物生産化学研究室で専門家らの協力を得ながら水稻品種化の検定を可能とする設備と技術の確立を目指していくことにした。

● 鉄含量および収量を高める栽培方法の検討（大島）

窒素施肥量が*tetsu1-BR*の収量や品質に及ぼす影響の調査では（図6）、収量は2.0倍区が最も多く、次いで1.25倍区、1.5倍区、対照区であった。対照区に比べ、窒素を増やしたいずれの試験区も収量が増加した。草丈、茎数は1.5倍区まで増加したが、2倍区では減少した。2倍区では茎数と径数が減少し1000粒重が増加していることから、窒素を現行の2倍量施用すると稲の生育形態が変化したと考えられる。無機成分は、全てにおいて1.25倍区が最も高い含有量を示した（図6）。

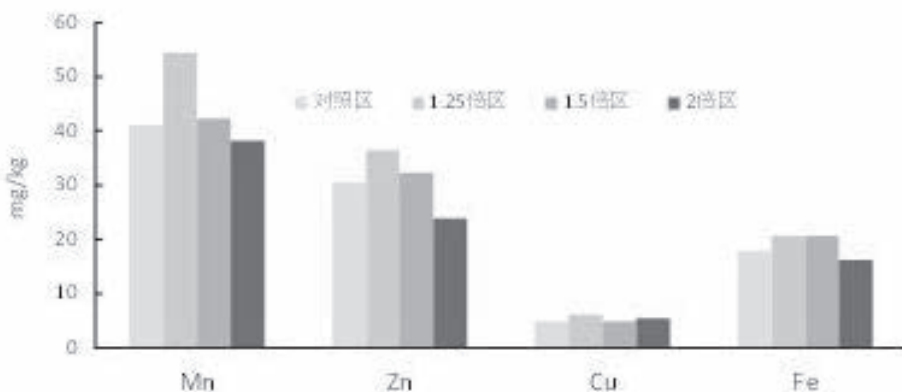
窒素施肥量を増やすと無機成分の玄米への転流が促進されると考えられるが、過剰になると米粒が肥大化する一方、玄米に転流される無機分量は上昇しないため、玄米中の無機成分濃度が低下すると考えられる。*tetsu1-BR*にとって、現行の1.25倍の窒素施肥量が収量の増加が見込め、無機成分含量も高くなるため最適であるとする。

稲の生育および収量構成要素

試験区	収量 kg/10a	穂数/株	一穂穂数	登熟歩合 %	草丈 cm	茎数
対照区	367	23.7	106	51.2	107	22.6
1.25倍	382	21.0	109	40.3	106	23.8
1.5倍	378	24.7	92.9	50.4	105	24.4
2.0倍	392	19.7	99.5	42.2	116	21.8



対照区



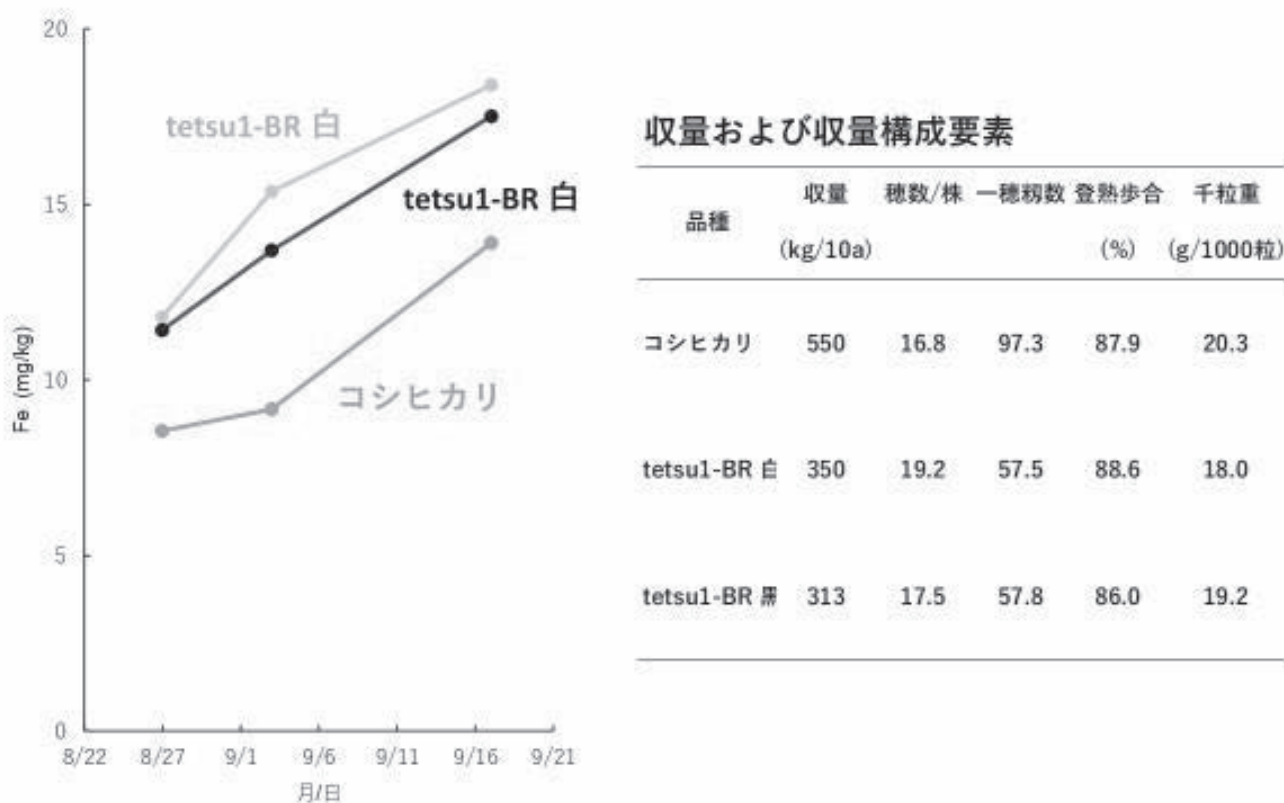
玄米の無機成分含有量



2.0倍区

図6. 長野県で栽培したイネ（A5系統）の収量構成要素と無機成分含有量

収穫時期と玄米中の鉄濃度との関係を調査した試験では（図7）、3品種ともに収穫時期が遅くなるにつれ、鉄が玄米部分に転流される結果となった。8/27に収穫した玄米の鉄含有量に比べ、9/3に収穫した玄米では、コシヒカリの鉄含有量はあまり増えていないのに対し、*tetsu1-BR*は白米、黒米ともにある程度増加傾向が見られた。そのため*tetsu1-BR*の方が早く玄米への転流が始まると考えられる。今年度収穫した*tetsu1-BR*は、登熟歩合が両品種とも85%を上回る高い結果となったため、*tetsu1-BR*とコシヒカリの鉄含有量の差は顕著になるのではないかと予想されたが、その差は1.3倍程度にとどまった（図7）。



収穫期における玄米中の鉄濃度の変化

図7. 千葉県で栽培したイネの玄米鉄濃度の変化と収量構成要素

また、長野（図6）と千葉（図7）の玄米の鉄含有量を比較した結果、わずかではあるが長野玄米の鉄含有量（20 mg/kg前後）が千葉（18 mg/kg前後）よりも高い傾向が見られ、窒素施肥量1.25倍区、1.5倍区ではその差が大きくなった。長野では5月24日に苗を定植、8/6に出穂し、9/24に収穫を行った。出穂日から収穫日までの積算温度と日照時間を分析したところ、1123℃・314時間であった。一方、千葉では4/20に定植、7/25に出穂、9/17に収穫を行った。積算温度と日照時間は1429℃・377時間であった。このことから、*tetsu1-BR*は比較的低い気温で栽培を行うと、低温により胚乳細胞の発達が抑制され、この間に胚や胚乳細胞の液胞へ多くの鉄を吸収できた可能性がある。

今後は、長野県で栽培時期を早め、窒素施肥量を現行の1.25倍で栽培することで、鉄含有量がもっと高い栄養強化米が収穫できると思われる。

● 鉄含量と登熟ステージとの関連性（齋藤）

圃場試験（大島）の結果を受け、ポット試験で栄養強化米の鉄含量が高まる収穫適期を明らかにすることにした。栽培は、東京農大・ガラス冷暖房温室（28℃±5℃）において自然光下で出穂させ、開花後の玄米中の鉄含量を測定した（もみ殻のデータは割愛する）。

tetsu1-BR各系統の玄米Fe含有量は開花7日目の時点で親株「台中65号（T65）」に比べて26倍高かった（図8）。早生品種の紫黒米「朝紫」は、登熟速度が著しく早く、7日目の時点で胚乳の肥大が進んでいたため、粒当たりの鉄含量は初期に高くなったものの（図8）、14日目までの鉄吸収量は*tetsu1*-BR系統に及ばなかった。このように、いずれの栄養強化米系統も開花初期の玄米のFe含量が高いことが特徴であった。その後の鉄集積速度は台中65号と栄養強化米に大きな差はなく、14日目以降のFe増加は緩やかであった。全体として栽培環境は異なるものの大島の結論と一致しており、開花後の早期に栄養強化米は玄米へ鉄を多量に供給しており、それにより最終的な玄米の鉄含量増加につながっていることが明らかになった。

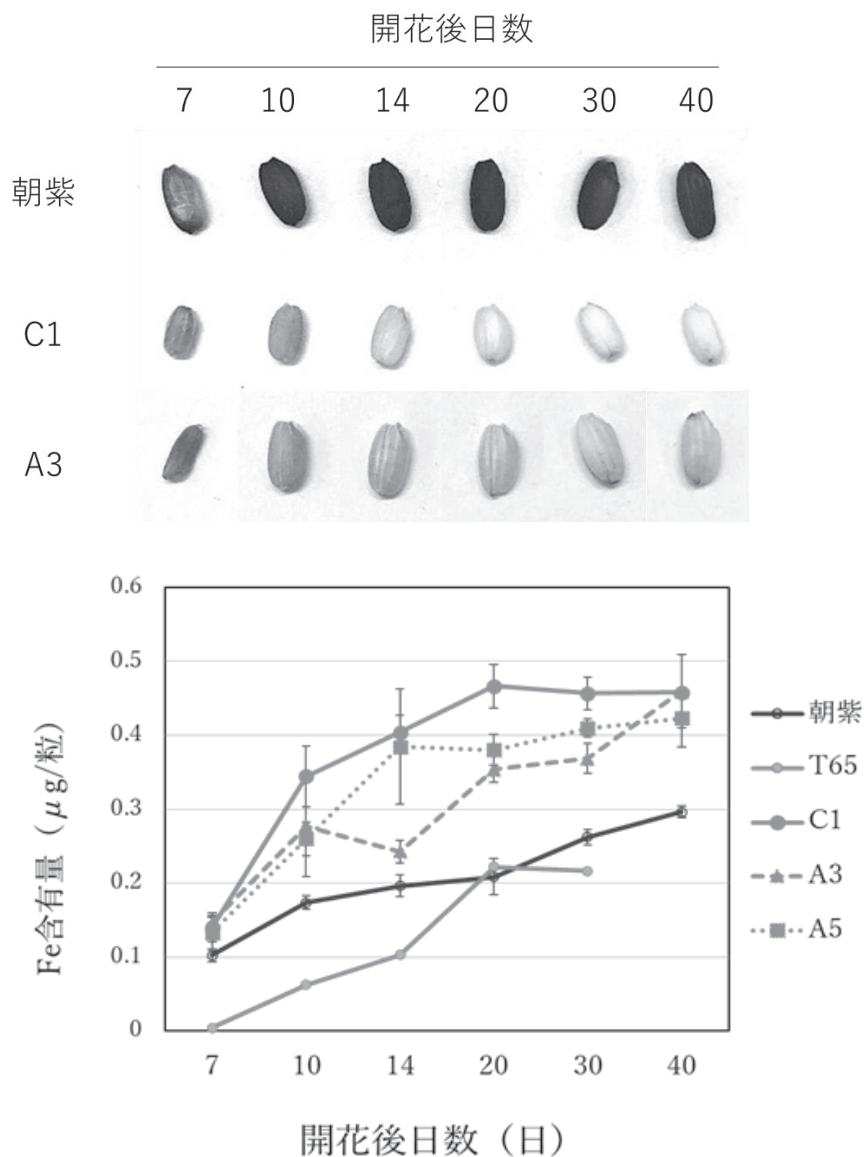
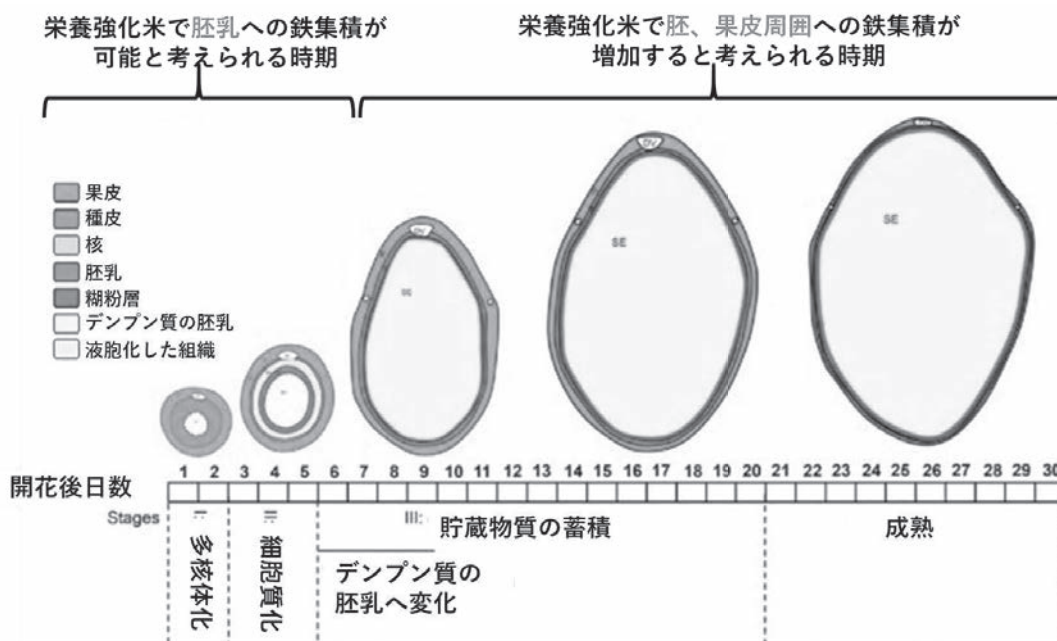


図8. 開花後の玄米形状と鉄集積量の経日変動（10粒の平均値から算出）

朝紫（母本）、T65（父本）、C1（*tetsu1*-BR白米糯型）、A3（*tetsu1*-BR白米粳型）、A5（*tetsu1*-BR紫黒米）

イネ胚乳は他の組織の細胞とは全く異なり、鉄を集積させるのは本来難しく、強制的に胚乳に鉄を取り込ませるように外来生物由来のフェリチン遺伝子を発現させるか、鉄輸送体遺伝子群を強制発現させるといった方法で、研究室レベルで実験的に作られた遺伝子組換えイネ以外に成功例がない (Aung and Masuda, 2020 Front. Plant Sci. 11:1102)。これは、胚乳の肥大過程で多核化した細胞となり、細胞質は巨大なアミロプラストやタンパク質に占有され、細胞膜や液胞などの膜系が消滅するためである。この間、胚乳細胞は細胞の機能を失い、デンプン質の構造体へと変化する (図9)。

こうした生体膜構造の変化と鉄輸送機能の消失がおこるために、胚乳が肥大した後の鉄集積は主に果皮・種皮・胚盤・胚のみに限られる (図10)。栄養強化米が安定して高い鉄を玄米に貯蔵するためには、胚乳細胞が完全にデンプン質に占有される前、つまり開花後初期の段階で鉄を多く吸収していることがポイントであることが今回初めて明らかになった (図9)。



Wu et al.(2016) Rice caryopsis development II: Dynamic changes in the endosperm. J Integr Plant Biol 58: 786-798をもとに作図

図9. 考察：栄養強化米で鉄集積を向上できると予想される時期

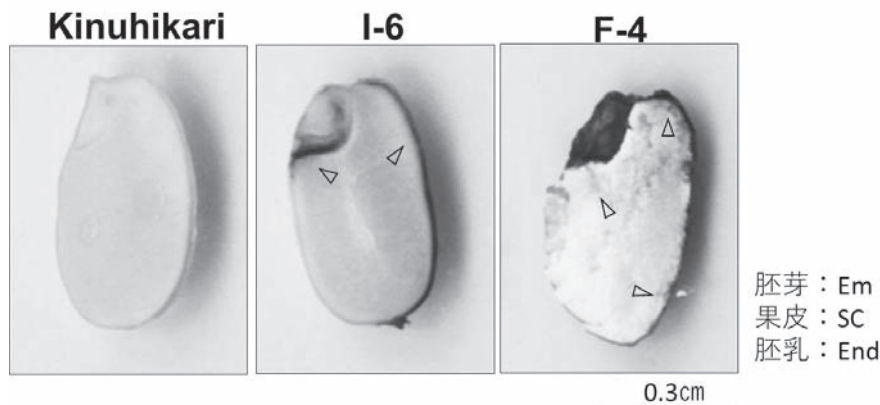


図10. 実際の栄養強化米 (I6, F4系統) の鉄集積部位

Per1' s染色法で鉄を青色に染色。矢頭は栄養強化米の胚乳中に拡散して存在する鉄を強調した。

今後、栄養強化米を圃場栽培した際に、安定的に鉄含量を高める栽培方法として、上記の大島の考察にあるように低温環境で初期の胚乳成長を抑制するか、初年度の齋藤の考察のように出穂直前に鉄資材を投与する方法が有効であると言える。具体的には、開花期の気温が高くなりにくい東北地方や北海道での栄養強化米の栽培も検討する必要がある。また、開花前後の気温が高い場合には、出穂期に水田へ取水を行って圃場温度を下げることや、その際に水溶性の鉄資材を取水口に投与する方法が有効になると考えられる。これらについては、今後、圃場試験にて検討したい。

● 栄養強化米に見られる鉄集積パターンの特徴（齋藤）

世代促進栽培を経て純系化した栄養強化米について、植物体のどこに鉄を多く蓄積しているのかを解析し、鉄輸送経路の特徴を解明することにした。以下、代表で朝紫とA3系統について報告するが、A3以外の栄養強化米系統でもほぼ同様の傾向を示した（図11）。

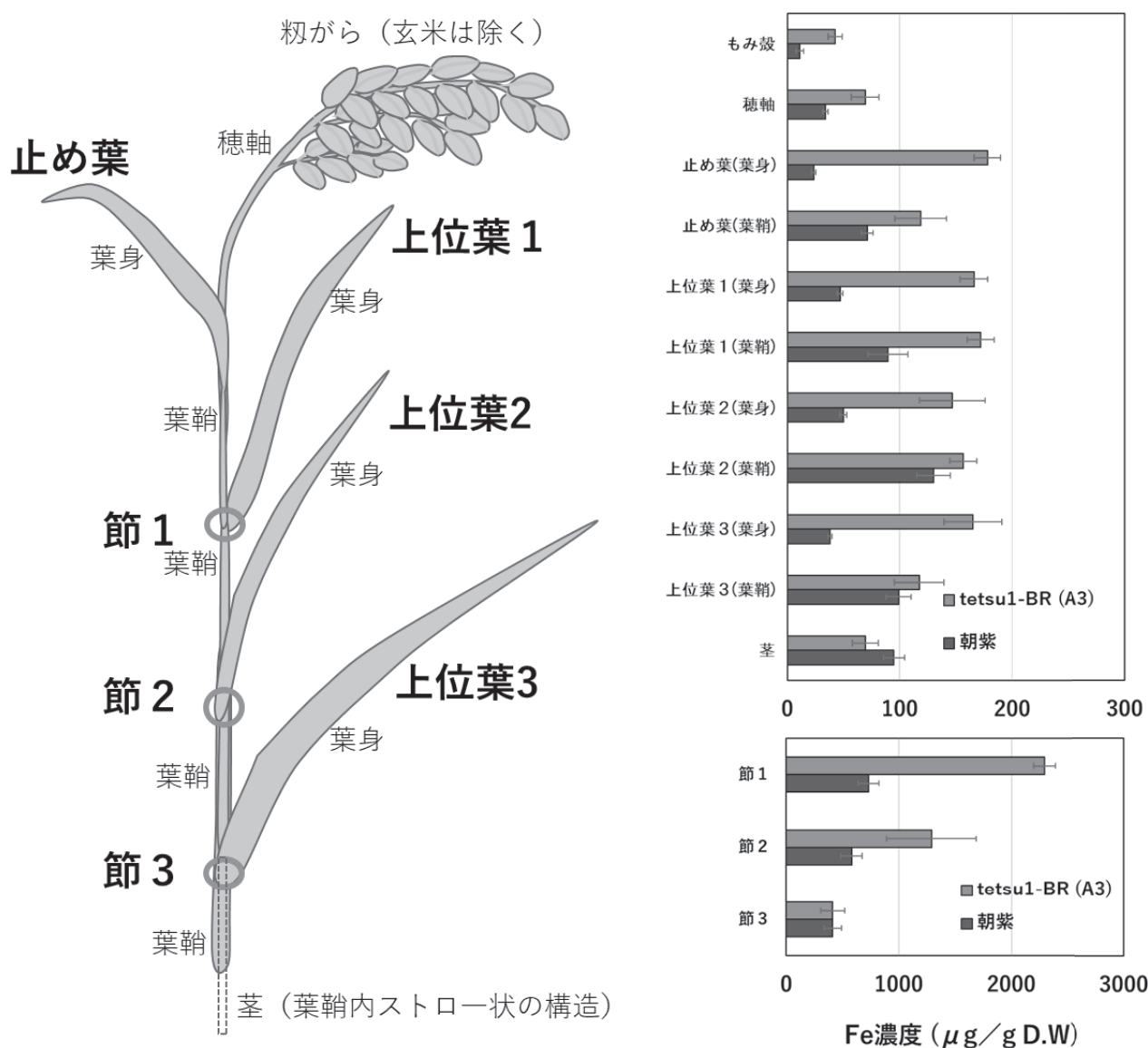


図11. サンプル部位の名称と各部位の鉄濃度

一般に、イネは根で吸収した鉄を導管に積み下ろして、地上部へ輸送する。その後、導管流に乗った鉄は葉の細胞内の液胞に集積する。成長したイネには展開葉の下位にそれぞれの節（せつ）があり、ここで導管から

篩管への物質の乗り換えを行っている。例えば、葉の光合成産物は節において、根の方向に行くか、種子の方向に行くか、その流量が制御されている。このため、節は一時的に養分を保持し、植物体の上限方向に物質ごとの仕分け輸送の制御を担っている。

栄養強化米A3系統では、下位節では鉄の高集積は見られず、朝紫と同等の鉄含量であった（図11、節3）。しかし、上位節になると鉄集積量は朝紫よりも増加した（図11、節2と節1）。このことから、栄養強化米では根から送られた鉄を下位節に保持してとどめることなく、上位節へと滞りなく送り出していることが分かった。

また、対照品種の朝紫では、節から供給された鉄は主に葉鞘に蓄積しており、葉身の鉄濃度は葉鞘の半分程度になるように抑えられていた。これは過剰な鉄を光合成がさかんな葉身に送らずに、葉鞘の液胞やアポプラストへ保持しているためであろうと考えられた。これに対して、栄養強化米では葉鞘でも葉身でも高い鉄濃度であり、とりわけ最上位の止め葉においては、朝紫の7.5倍の鉄集積量となっていた。穂へ向かう鉄量も高く、穂軸ならびにもみ殻においても鉄の高集積が見られた。このことから、最上位節から穂へ向かう維管束ないの鉄移行も栄養強化米では高いことが分かった。

篩管での鉄の化学形態は、ニコチアナミンとの鉄キレート状態で行われ、ニコチアナミン鉄輸送体は種子への鉄供給に必須であることが知られている。このことを支持するように、*tetsul*変異体では軒並みニコチアナミン合成酵素の発現量が増加しており、これが篩管経由で穂への鉄供給量を高めていると考えられる。一方で、これらの因子の発現量を調整しているのは、他の転写因子群であり、*tetsul*原因遺伝子が鉄輸送に関連するシグナル伝達上流の制御因子であることを示唆している。

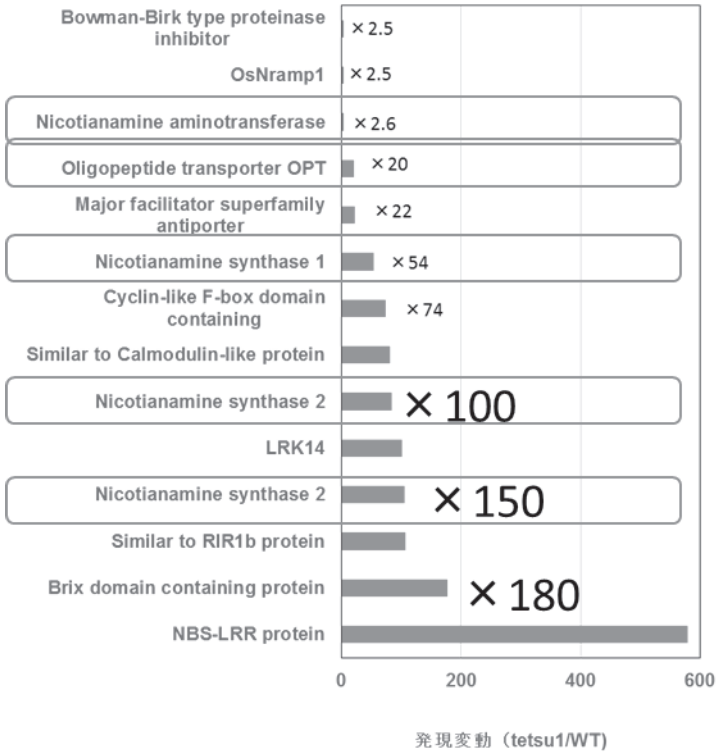


図12. *tetsul*における鉄輸送に関連するニコチアナミン合成酵素ならびにその関連遺伝子の発現上昇

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

261個体の *tetsu1*-BR F₂ 植物を栽培し、それらの葉身のFe濃度を測定した (図13)。朝紫の鉄濃度を1としたときの、*tetsu1*-BR F₂ 系統の鉄濃度の相対値を比較し、相対値が2以下を低Fe型、2以上を高Fe型として設定した。これは、10個体の *tetsu1* の分析値で相対値2を境に全て *tetsu1* 型 (高Fe) になったためである。この結果、低Fe型 : 高Fe型 = 1 : 3 となり、想定通りメンデル遺伝に従っており、*tetsu1* 原因遺伝子が劣性ホモ遺伝子であることを改めて確認した。現在、これらの高Fe型、低Fe型の中から、鉄含量が特に高い個体と鉄含量が低い個体をそれぞれ43~47個体選抜し、ゲノムDNAを抽出・精製した。このゲノムDNA全体を網羅的にPCRで増幅し、得られたアンプリコンを次世代シーケンサーで解読した (GRAS-Di法)。得られたデータをもとに、ジェノタイプ解析を行ったところ、第一染色体の約500kbの範囲に、*tetsu1* の原因遺伝子座を見出した。さらに朝紫、*tetsu1*、ならびにF₂ 個体の計96試料間でSNPs解析を行い、上記の候補領域で同遺伝子座内の130kbの範囲に *tetsu1* 遺伝子が存在する可能性が示唆された。この領域には既知の鉄輸送・鉄応答因子は含まれないことから、新規遺伝子である可能性がある。引き続き、原因遺伝子の特定に向けてこの領域内の全遺伝子のシーケンス解析を実施していく。

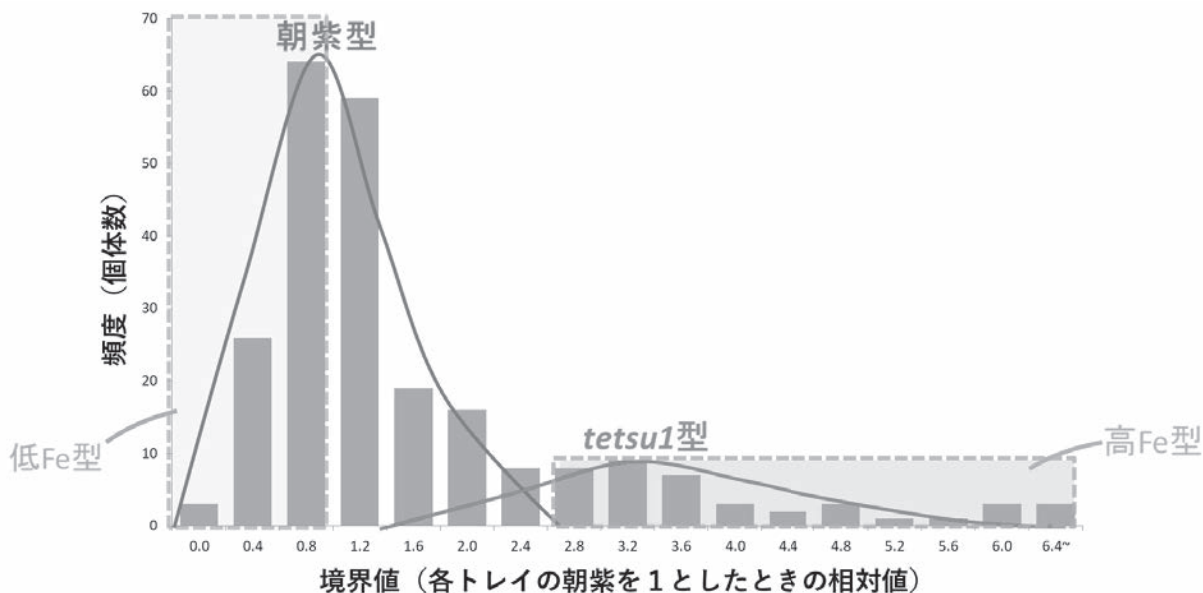


図13. *tetsu1*-BR F₂ 植物260株の鉄含量の度数分布

● 栄養強化米中のオミクス解析 (相澤)

玄米及びα-化玄米に含まれる機能性成分について、玄米の機能成分として報告のある GABA やビタミン B 群のナイアシンは、キヌヒカリと比較し増加していた。それ以外にも choline, spermidine, carnitine といった成分にも増加が認められた。また、興味深いことに、玄米では、フィチン酸の基本骨格であるイノシトール濃度が玄米時では、キヌヒカリと比べ濃度が低かった。しかし、加熱加工を行ったα-化玄米ではキヌヒカリと同程度の濃度に増加していた。

● フィチン酸の検証 (相澤)

上述のオミクス解析の結果から、α-化といった加熱加工によりフィチン酸の分解が可能であることが示されたため、CE-MS 解析によるフィチン酸のピークについて再解析を慶應義塾大学先端生命科学研究所若山正隆先生に依頼した。しかし、フィチン酸のピークは、分子量ピークおよび、z=2 の多荷イオンピーク共にノイ

ズに埋もれ、確認には至らなかった。これは、CEMS 解析に用いた現行の玄米抽出方法では、フィチン酸の抽出に至らなかったと考えられる。文献検索の結果、多くの場合塩酸などを用い酸性条件下での抽出を行っている (Lehrfeld, J. (1989).)。今後、抽出条件の検討や LC-MS ではなくよりクリードな状態のサンプルの解析にも向く HPLC を用いた測定を行っていく。

【Table 編：栄養強化米の精米法・加工法の確立(辻井、鈴野、井上)】

米の炊飯調理は、洗米、加水、浸漬、加熱、蒸らしの操作に分けられる。一般に洗米は、炊飯における異臭および粘りや光沢を劣化させる諸成分の除去等、食味を良好にするために行われるが、この際にミネラルを含む栄養素がとぎ汁として流出することが分かっている。そこで最終年度目は、昨年度の洗米工程の再現性をとることに加え、本年度収穫した栄養強化米を用いて浸水時間、洗米回数およびとぎ方の強度から適切な洗米方法を検討した。また口腔内および胃内消化モデルを構築し、遊離鉄量の測定を試みた。

● 洗米行程における栄養強化米中ミネラル残存量に関する検討 (井上)

洗米前および5回洗米後の通常玄米(コシヒカリ)および栄養強化米(A5 および C1)の鉄残存量を原子吸光高度計にて測定した (n=4)。その結果、洗米前の鉄濃度が通常玄米が 11.0 $\mu\text{g/g}$ 、栄養強化米 A5 が 15.5 $\mu\text{g/g}$ 、C1 が 16.3 $\mu\text{g/g}$ であったのに対し、洗米後は通常玄米で 10.2 $\mu\text{g/g}$ 、栄養強化米 A5 が 14.4 $\mu\text{g/g}$ 、C1 が 15.4 $\mu\text{g/g}$ となった。以上より、洗米による栄養強化米中の鉄残存率は全品種で 90%を超えており、洗米後も栄養強化米(A5 および C1)は通常玄米よりも 1.4~1.5 倍多く鉄を含有していることを確認した。

(参考値: キヌヒカリは洗米前 12.8 $\mu\text{g/g}$ に対し、洗米後 11.9 $\mu\text{g/g}$ であった。一方、栄養強化米 I6 は洗米前 24.5 $\mu\text{g/g}$ に対し、洗米後 18.6 $\mu\text{g/g}$ であったが、キヌヒカリに対して栄養強化米 I6 は鉄分を 1.5 倍高く含んでいることを確認している)

● 炊飯米の消化効率の検討 (井上、大島、齋藤)

本年度収穫した栄養強化米(A5 のみ)と対照群であるコシヒカリ玄米を一般の炊飯器で炊飯し、炊飯米の口腔内消化をアミラーゼ溶液、胃内消化はペプシン溶液を用いて玄米の形状(見た目)、消化効率および遊離鉄を測定した。以下に結果を示す。

① アミラーゼ試験

アミラーゼ試験の実験系がきちんとできているかは可溶性デンプンを用いて確認した。その後、コシヒカリ玄米および栄養強化米 A5 に対するアミラーゼ消化試験を行い、ヨウ素デンプン反応によるデンプン残存率で算出した。その結果、アミラーゼ反応 5 分後のデンプン残存率は 99.3%だったのに対し、A5 では 85.9%を示した。その後、経時的にアミラーゼ反応溶液を解析した結果、コシヒカリ玄米では、15 分で 97.0%、30 分で 80.1%のデンプン残存率を示した。一方、栄養強化米 A5 では、15 分で 74.7%、30 分で 73.8%のデンプン残存率を示した。また、遊離鉄量もアミラーゼ反応と同様の傾向を示し、反応 5 分後からコシヒカリ玄米では 157.6 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、栄養強化米 A5 では 288.4 $\mu\text{g}/100\text{g}$ となり、約 1.8 倍も鉄が遊離していることを確認した。これは 15 分(コシヒカリ: 226.2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、栄養強化米 A5: 347.5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、約 1.5 倍差)、30 分(コシヒカリ: 149.0 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、栄養強化米 A5: 403.3 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、約 2.7 倍)と反応時間を延長することで、その差が大きくなることも確認した。

② 胃酸消化試験

炊飯米をペプシン溶液中に加え、37 $^{\circ}\text{C}$ 、3 時間ゆっくり振盪反応させた。その後、吸引ろ過法により残渣を取り除き、反応溶液中の遊離鉄量を測定した。その結果、胃酸溶液によりコシヒカリ玄米および栄養強化米の形状はお粥状にまで変形したが見た目により大差を認めなかった。一方、反応後の遊離鉄量を測定した結果、バラつきが大きく、コシヒカリ玄米では 2.08 \pm 1.92 mg/mL 、栄養強化米 A5 では 0.63 \pm 0.23 mg/mL となった。原因として、胃酸溶液での反応後の残渣の混入などが考えられる。改善点としては、アミラーゼ試験と同様に超純水で一度すりつぶした後、胃酸溶液で反応させることに加え、残渣の混入を防ぐためにメッシュ孔の大きさを変えることで更にクリアな結果が得られるものとする。

- レトルト米における鉄保持量の検証（井上、齋藤）

本年度収穫した栄養強化米(A5、C1)と対照群であるコシヒカリ玄米について、東洋ライス株式会社よりレトルトパックにして試作品を完成させた。そこで実際に大量調理していただいたが、栄養強化米から鉄の溶出量を測定する必要がある。そこで、包装の異なるレトルト米を各々灰化し、鉄量を測定することにした。現在、齋藤が解析を進めており、プロジェクト完了までに結果を得る。

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

最終年度の研究として、2つの動物モデルを用いて栄養強化米の付加価値を見出すことを目的とした。具体的には、1) 肥満の病態または、2) 鉄欠乏性貧血を再現したモデル動物試験で、栄養強化米食と玄米食による病態の改善効果を比較することで高付加価値化を検証することとした。また3つ目として、栄養強化米中に含まれるトリゴネリンの生理機能評価をすることで更なる高付加価値化を目指した。以下に詳細な実験方法を記載する。

● 栄養強化米による肥満性脂質の改善効果の検証 (鈴木、相澤)

肥満モデル動物を用いて飼育を行った結果、生体内において代謝の中心臓器となる肝臓において、キヌ群とI6群でCTL群と比較してその重量の低下が確認できた。肝臓中のトリグリセリド量および総コレステロール量がCTL群と比較してキヌ群とI6群の両者ともに優位に低下したことや、肝臓の組織切片の観察結果から肝臓中の脂肪滴の減少が観察されたことから、脂肪の減少により肝臓の重量が減少したことが示唆された。さらに、肝臓中の脂肪抑制の結果として肝障害マーカーの値がCTL群と比較して優位に低下した。しかしながら、最終体重においてZucker fatty ラット間で餌の違いによる体重の違いは認められなかったことから、玄米の成分が主に肝臓の代謝に影響を与えたものと推察した。そこで肝臓中の代謝産物のメタボローム解析を行ったところ、解糖系やTCA回路に関与する代謝産物においてCTL群と傾向が大きく異なり、Lean群に比較的近い傾向にあることを確認できた。

この他に、血漿中のメタボローム解析を行ったところ、アテローム性動脈硬化症の要因の一つとして知られている、トリメチルアミン-N オキシドの値が有意に低下することが新たに示された(右グラフ)。トリメチルアミン-N オキシドは、食事によって摂取したコリン等が腸内細菌によってトリメチルアミンへと変化し、肝臓中のFMO3などの酵素によって生成される。肝臓中のFMO3の遺伝子発現量を測定した結果、群間内で変化は認められなかったことやI6自体のメタボローム解析の結果からコリン等の減少は認められなかったことから、I6摂取による腸内細菌叢の変化によってトリメチルアミン-N オキシドが減少したことが推察された。

以上、栄養強化米が肝臓の脂肪蓄積の抑制に効果があること、さらに一般的な玄米と異なりトリメチルアミン-N オキシドが栄養強化米摂取において減少が認められたことから、栄養強化米特異的な食品機能を有することが示唆された。

● 栄養強化米による鉄欠乏性貧血に対する改善効果の検証 (井上)

初めに試料を灰化後、原子吸光度計にて鉄濃度を測定することで本試験計画が成立するの否かについて検討を行った。その結果、CTL群は40.0 µg/g、ID群は4.0 µg/gとなり、鉄欠乏食であることを確認した。また、鉄レスキュー試験に用いる鉄濃度はK群で12.7 µg/g、I6群で24.5 µg/gとなり、鉄レスキュー試験が可能である鉄濃度と判断した。本飼料を用いて、リカバリーとして10日間の投与期間を設けた。以下、結果をまとめる。

最終体重は各群間で有意差を示さなかった。また総摂食量はPair-feedを行っているため、有意差を示さなかったが、I6群およびK群に置換後、摂食量が減少した。続いて、鉄欠乏マーカーである血中ヘモグロビン濃度はCTL群に比し、ID群で有意な低値を示し鉄欠乏状態であることを確認した。またID群に比し、K群およびI6群において有意なヘモグロビン濃度の増加を示し、且つI6群はK群に比し、有意な増加を示した。心臓重量および脾臓重量はCTL群に比し、他3群で有意な増加を示したが、K群およびI6群投与による影響を示さなかった。続いて、血清鉄はCTL群に比し、ID群で有意な低値を示したが、K群およびI6群投与による影響はなかった。一方、鉄結合能(TIBCとUIBC)は、CTL群に比し、ID群で有意な増加を示したが、I6投与においてのみ有意な低下を示したが、K群との間に有意差はなかった。また肝臓中組織鉄濃度も同様にCTL群に比し、ID群で有意

な低値を示したが、これはK群およびI6群で有意に増加した。また肝臓中亜鉛濃度を解析した結果、ID群で有意に増加した亜鉛濃度はI6群でCTL群にまで減少した。銅濃度については全群間で有意な差を認めなかった。以上の結果より、栄養強化米(I6群)が通常玄米(K群)よりも鉄欠乏性貧血を改善するのみならず、肝臓中の亜鉛濃度を正常に戻すことが明らかとなった。今後、摂食期間をさらに伸ばすことでより鉄欠乏性貧血が改善するのか、また鉄過剰摂取の観点からも栄養強化米の長期投与から安全性について検証する必要がある。

● 栄養強化米中成分トリゴネリンの抗炎症抑制効果の検証 (相澤、井上)

本試験では、トリゴネリンが抗炎症能を有するか否かを検討するために、マウス由来マクロファージ様細胞(RAW264.7)と炎症誘導剤として大腸菌由来 LPS を用いた評価系を用いた。一般的に LPS 刺激による炎症評価は培養上清中の一酸化窒素(NO)量の増大で評価する。そこで LPS 刺激による NO 産生量をトリゴネリンが抑制するか否かを解析した。その結果、無処理群に比し LPS で増大した NO 産生量はトリゴネリンにより有意に減少した。加えて、LPS 刺激で増加した誘導型 NO 合成酵素(*iNOS*)、炎症性メディエーターである *COX2* や炎症シグナル分子群(*TNF- α* 、*IL-1 β* および *IL-6*)遺伝子発現量もトリゴネリン処理により著しく減少することを明らかにした。さらに、活性酸素種産生酵素である *p47phox* および *p67phox* 遺伝子発現も LPS 処理により増加したが、これらの発現もトリゴネリン処理により有意に減少した。一方、抗酸化分子である *catalase* 遺伝子については影響を示さなかった。以上より、マクロファージにおいて、トリゴネリンは LPS 誘導性炎症性メディエーター群および活性酸素シグナル分子の発現抑制を介し、過剰な NO 産生量を減少させることで炎症を抑制する可能性を強く示唆した。

【Products development編:栄養強化米を使った食品・飲料の開発（辻井、門倉、梶川、岡）】

● 栄養成分強化米A5とC1の官能評価（鈴野）

栄養鉄強化米A5の米飯は、分析型において色、かたさ、プチプチ感、雑味、後味の項目で基準（コシヒカリ）と比較して有意に強いと評価された（図14、分析型）。嗜好型ではいずれの項目でも有意差はみられなかった（図14、嗜好型）。分析型で有意差がみられた項目でも嗜好型では有意差がみられなかったため、基準（コシヒカリ）と同様の嗜好性で食べることができると考えられる。

栄養鉄強化米C1の米飯は、分析型において色、雑味の項目でC1が有意に基準（コシヒカリ）よりも強いと評価された。一方、嗜好型では色の項目で基準に比べてC1が有意に低いと評価された。このことから、米の色が薄い基準（コシヒカリ）の方が好まれると考えられる。鉄分の味覚への特徴は雑味に現れると考えられる。雑味の項目において、分析型では基準（コシヒカリ）に比べ有意に強いと評価されているものの、嗜好型では有意差がみられなかったことから、鉄分強化によって玄米の味に影響はあるものの、嗜好性に影響は及ぼさなかったと考えられる。

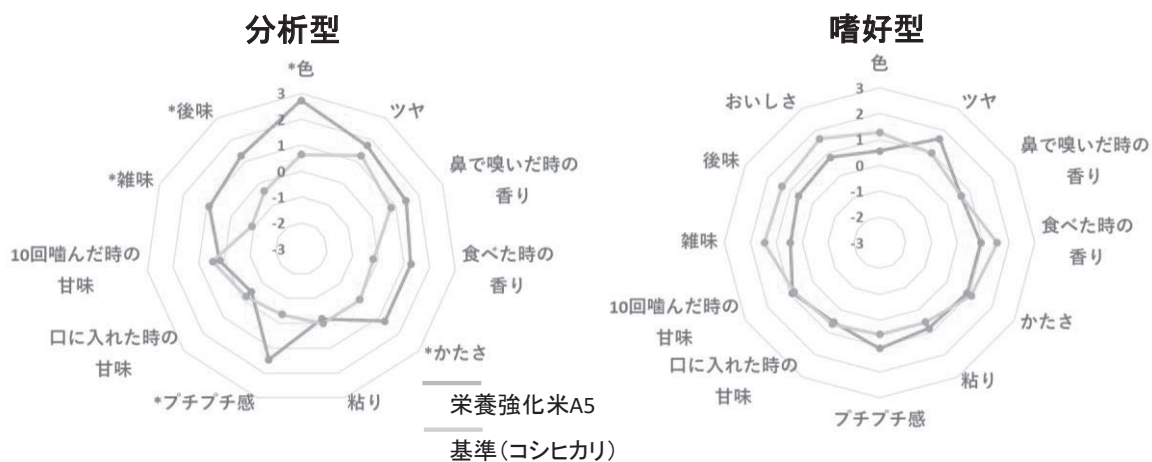


図14. 栄養強化米A5の米飯の官能評価

*2 群間で有意差有り ($p < 0.05$)

● 高付加価値化の搗精方法の検討、及び冷凍米飯の製造検討（辻井、鈴野、岡）

玄米のロウ層のみを除去するために、東洋ライス株式会社と共同で行った。玄米表面にある硬くて防水性の高いロウ層を均等に除去した。ロウ層を除去したロウカット玄米に含まれる鉄含量は、ほとんど減少はなかった。さらに炊飯のモデル系で加熱吸水比較行くとロウカット玄米は、玄米と比較すると約18%向上した。これらの結果から、ロウ層を除去した玄米は、鉄含量の損失はほとんどなく、加熱吸水が向上することから、玄米と同様な栄養素を有し、調理しやすく食べやすい加工米になっていることがわかった。

東洋ライス株式会社の協力により、新しい精米技術である均圧精米法を用いて、胚芽の基底部と亜糊粉層を残存させた。次に無洗米加工で、胚芽と亜糊粉層を残したまま表面の糠の除去を行った。その結果、基準のコシヒカリは処理できたが、栄養強化米A5とC1ではこの処理はできなかった。これらの品種は、胚芽の部分が取れやすく胚芽が残りにくかったことが要因である。コシヒカリの場合、精白米より鉄分が約40%多く含まれ、加熱吸水率は約10%低下程度の減少であった。すなわち、胚芽の基底部と亜糊粉層を残存させた加工米は、精白米よりも鉄含量の残存が多く、精白米に近い物性の米飯であることが分かった。

写真（図15）で示したように冷凍米飯の試作製造を行った。各サンプルは6.25kgを使用し、加水量は米重量の1.6倍、浸漬は12時間行った。食用油を60cc使用した。炊き上がりが約15kg、90g (+2~7g) / p c で計量後、容器に詰め、バッチ式急速冷凍方式にて-30℃以下で1時間以上行った。解凍方法は、電子レンジ500W

で2分もしくは700Wで1分20秒と設定した。

栄養成分強化米A5の冷凍米飯は、香りが強く、粘りやプチプチ感といった食感に嗜好のばらつきが大きいことが特徴であると考えられる。栄養成分強化米C1の冷凍米飯は、基準米と同様にクセが少ないことが特徴であった。

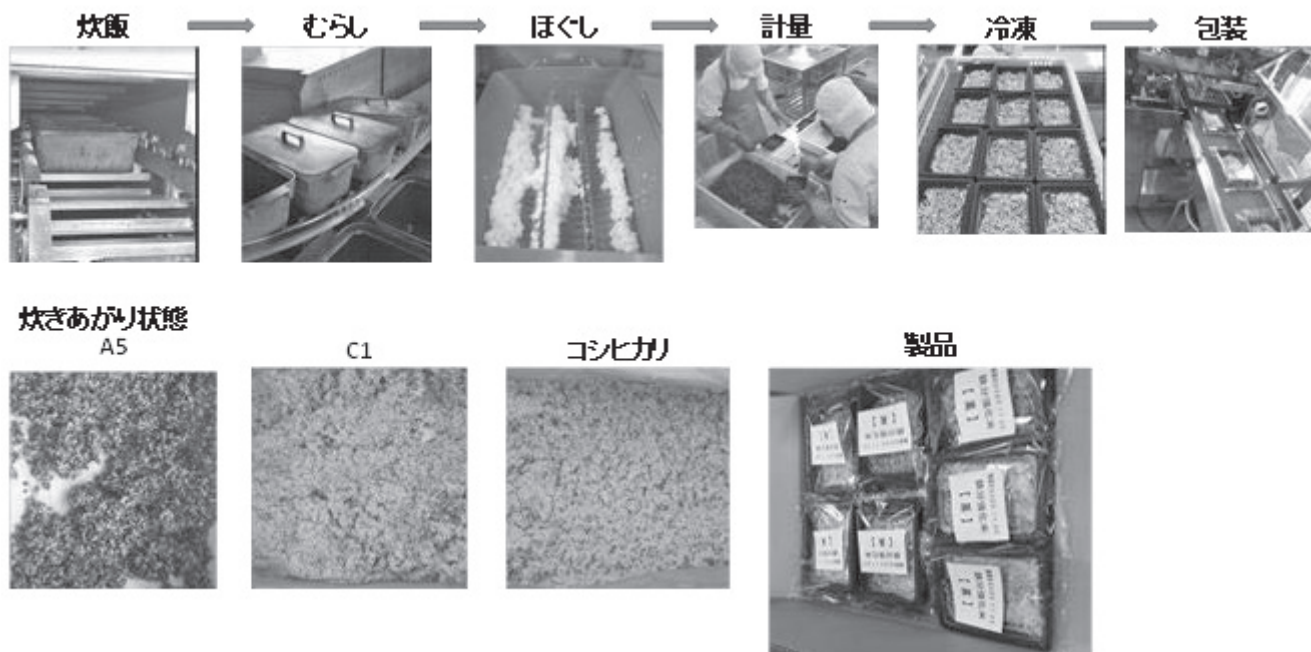


図15. 栄養強化米の冷凍米飯の製造

● サワーブレッドの試作 (岡)

玄米を使用することでサワー種の発酵に影響を与える可能性が示唆されたため、18時間発酵後の生地のパHを測定したところ、比較試料である精米（コシヒカリおよびA5）添加と同様に、栄養強化玄米（A5）添加でも約pH 4.2まで低下していた。そこで同生地を用いてサワーブレッドを調製した結果、コシヒカリ精米添加と栄養強化玄米（A5）添加の間にパン比容積に有意差はなく、サワー種の調整において栄養強化米玄米は精米と同様に使用できた（図16、左図）。

また、パンの縦横比に関しては精米（コシヒカリおよびA5）添加と比較し、栄養強化玄米（A5）が有意に高い値を示し、ダレにくい生地になることが示唆された。サワー種の調製の際、玄米と比較し精米（コシヒカリおよびA5）では離水が激しかったため、玄米は保水性に優れていることが示唆された。その要因として玄米に含まれる食物繊維の関与が考えられるが、その食物繊維の保水効果が結果的にダレにくい生地になったものと推察された（図16、中央図・右図）。以上のことから、栄養強化玄米(A5)添加でも良好なパンを調製することができることが分かった。さらには保水効果を示すことから精米よりも多加水で製パンでき、歩留まりの観点からみると精米よりも優れていると示唆された。なお、鉄含量は対照試料のコシヒカリに対して約1.5倍高い値を示すことも確認した。

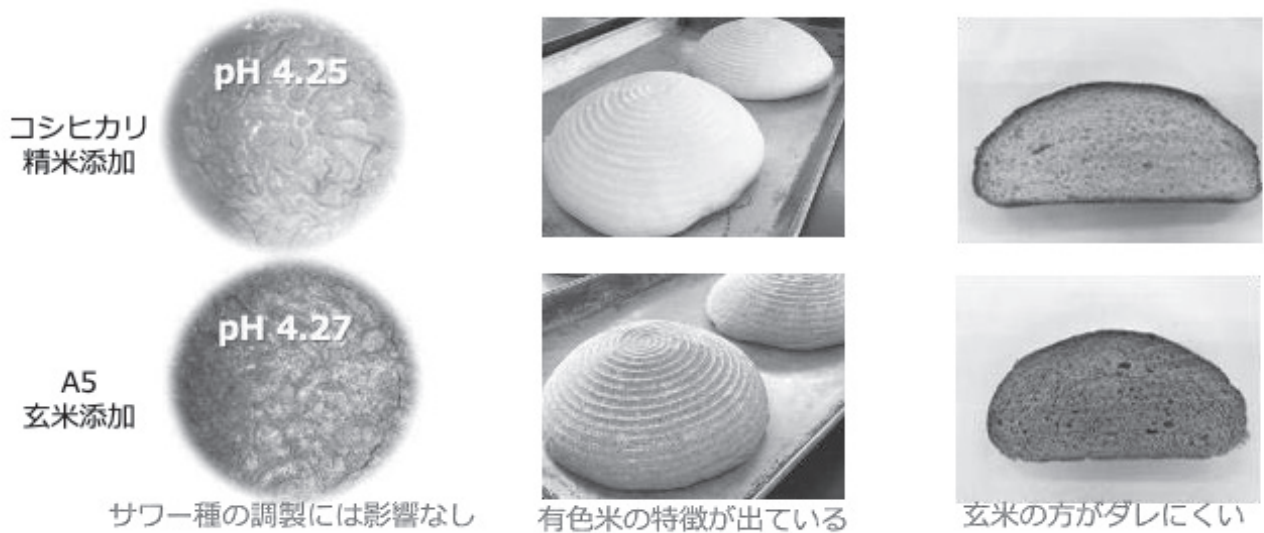


図16. 栄養強化玄米添加パン（サワーブレッド）の試作

● サワーブレッドの官能評価（鈴野、岡）

図17に示したように、分析型において、色、香り（鼻で嗅いだ時の香り）、食べた時の香り（口から鼻に抜ける香り）、酸味、雑味、後味の項目で基準（コシヒカリ精米添加）に比べて栄養強化玄米（A5）添加では有意に強いと評価された。嗜好型においては、色、酸味、雑味、後味の項目で栄養強化玄米（A5）添加が有意に低いと評価された。一方、A5の精米添加では、基準（コシヒカリ精米）添加に比べて、分析型および嗜好型ともに色以外において有意な差はなかった。このことから、サワーブレッドに関しては、色、酸味、雑味、後味が弱い方が好まれ、それら項目において玄米添加は精米添加より劣る傾向になることがわかった。

一方、総合評価においては栄養強化玄米（A5）添加でも「好ましい」と答えた割合が64%以上を示し、比較的好ましいサワーブレッドであることが示唆された。さらに、玄米添加に特徴的な雑味、後味などをマスキングするために、くるみやクランベリーも同時に加えて試作したところ、雑味、後味を好ましくないと思っている割合が玄米添加パンより減り、「好ましい」と答えた割合が83%以上を示し、玄米添加による雑味や後味といった負の影響がくるみやクランベリーにより改善され、より良好な玄米添加サワーブレッドが調製できた。

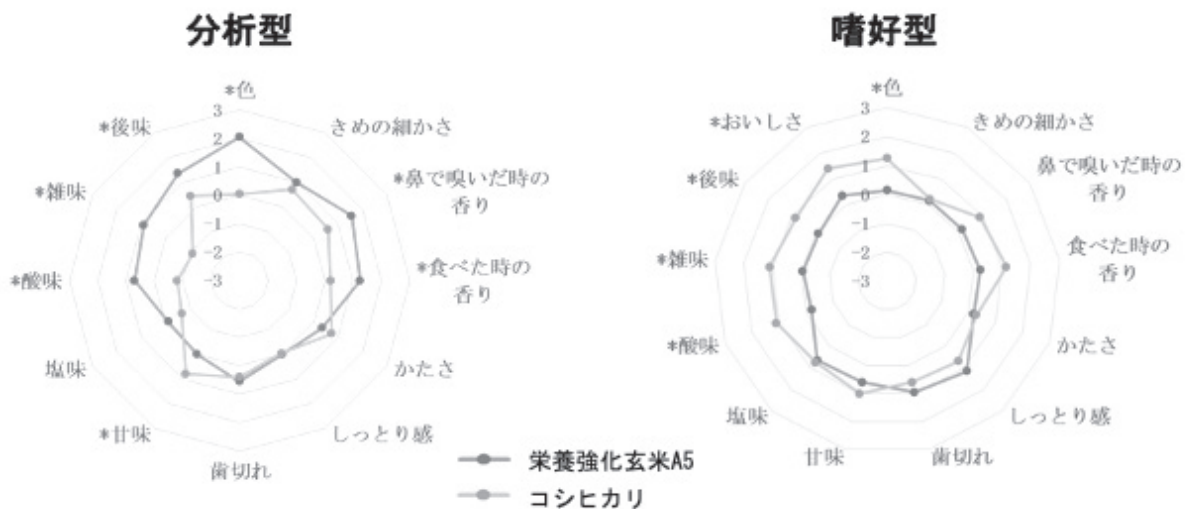


図17. 栄養強化玄米添加パン（サワーブレッド）の官能評価

*2群間で有意差有り ($p < 0.05$)

● 栄養強化米を用いた日本酒の試作に関する検討（門倉）

昨年度の結果からアルコール濃度15～19%の玄米日本酒の製造が可能であったため、アルコール濃度が17～18%になったところで甘酒四段を行いうことにより、日本酒度が+となるグルコース濃度1%未満の辛い酒を、グルコース濃度1～2%、アルコール濃度14～15%の酸味と甘味のバランスの取れた比較的低アルコールの玄米日本酒になるような醸造法の改良に成功した。また、当然のことではあるが栄養強化米と麴を用いた甘酒を作ることも可能であった。

一方、栄養強化米栄養素(特に鉄)を保持できているのかについては、表6に示すようにP、K、Ca、Naは上槽した（日本酒を搾ること）玄米日本酒に移行する傾向にあったが、Mn、Fe、Cu、Znは酒粕に残存する傾向にあった。しかし、栄養強化米を用いた玄米日本酒、酒粕共にFeは多く栄養的付加価値はあるものと考えら、酒粕については甘酒やケーキなどに用いることも可能である。また、有色米を選別することにより赤色を鮮明にすることは可能で、アントシアニン（ポリフェノール）の栄養的付加価値を持たせた玄米日本酒にすることも可能である。

表6. 日本酒ならびに酒粕のミネラル濃度

日本酒								
	P	K	Ca	Na	Mn	Fe	Cu	Zn
mg/L								
コシヒカリ	403	261	22.14	15.32	2.55	1.29	0.04	1.38
強化米(白)	431	406	22.20	16.91	2.21	1.81	0.04	1.07
強化米(黒)	402	391	25.04	17.54	2.31	1.60	0.03	1.72

酒粕								
	P	K	Ca	Na	Mn	Fe	Cu	Zn
g/kg(DW)								
コシヒカリ	4.55	2.54	0.27	0.06	25.8	16.9	3.33	37.4
強化米(白)	4.74	3.05	0.28	0.06	26.3	23.0	3.21	35.7
強化米(黒)	4.22	2.59	0.28	0.05	25.1	21.3	3.02	32.5

● ミキ由来乳酸菌株を用いた健康機能性の検討（梶川）

栄養強化米の発酵に適した乳酸菌株を選抜するため、ミキ（奄美大島のコメ発酵飲料）を2倍希釈した培地を使用してミキ由来乳酸菌株の発酵性を調べた。その結果、培養1日目で顕著な酸生成（pH4.0以下）が認められたものが5菌株（MKT6、MKY11-1、SKK7、SKK5、MKA3）あった（図18）。

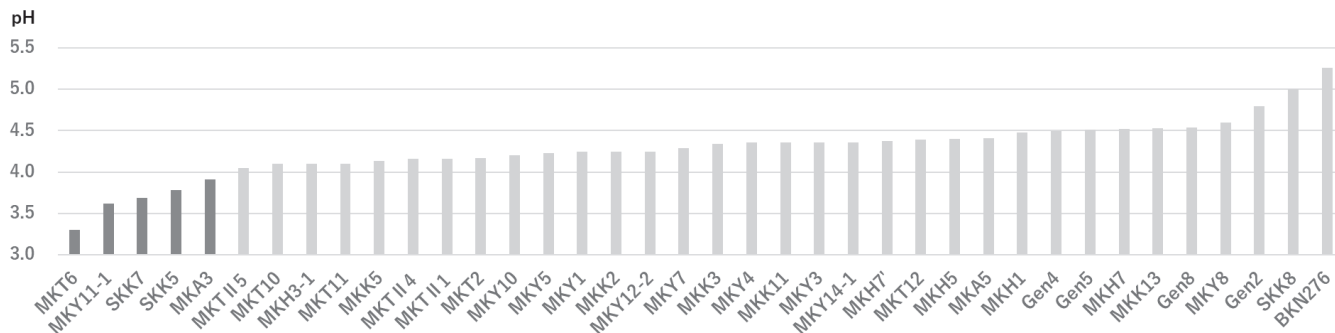


図18. 栄養強化米の発酵に適した乳酸菌株の選抜

安全性の評価として、溶血活性および抗生物質耐性の調査を行った。その結果、SKK5およびSKK7においてはエリスロマイシン耐性が認められた。これら5菌株について、溶血活性は確認されなかった。以上の結果より、上記2菌株を除外した。

残る3菌株のうち、栄養強化米を使用した発酵性試験において菌体増殖と産生性に優れた *Leuconostoc lactis* MKA3 と *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *tolerans* MKY11-1 の2菌株を最終候補とした。それぞれの発酵時間を検討したところ 30℃、1日（24時間）で十分であることが示された（図19）。また、発酵後20日間の冷蔵保存期間中、真菌類や大腸菌は検出されず、保存性においても問題は見られなかった。

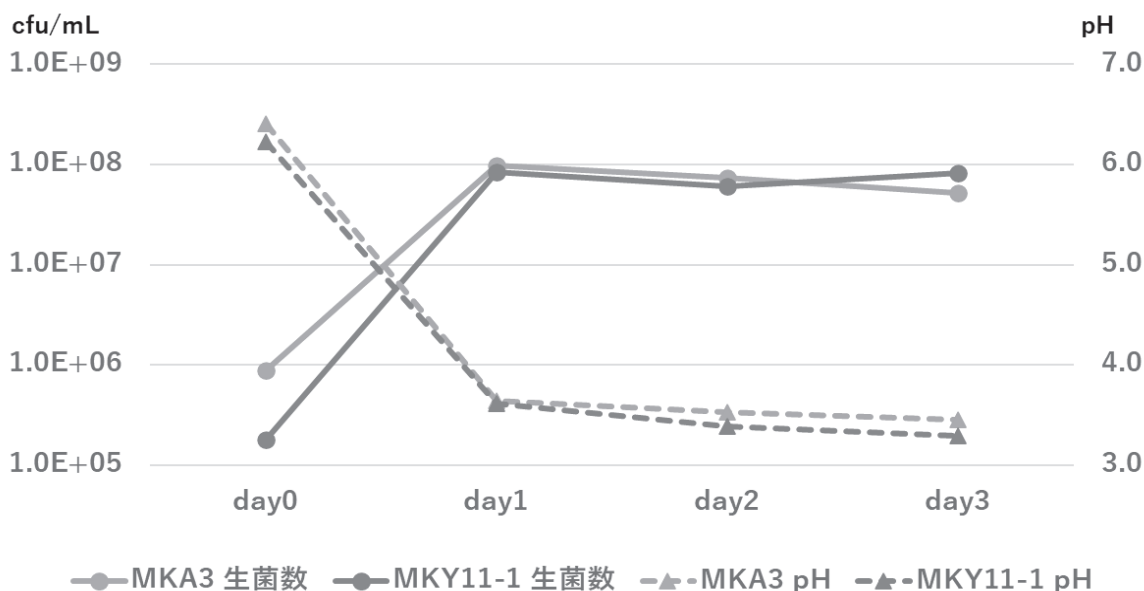


図19. 最終候補の2菌株の発酵時間

以上の結果より、栄養強化米を使用したコメ発酵飲料のスターターに適した2菌株の乳酸菌が決定された。

いずれも十分な発酵性を示すものの、MKA3 はヘテロ乳酸発酵であるため炭酸ガスおよびエタノールの産生がある点に留意すべきである。一方の MKY11-1 はホモ乳酸発酵であるためガスやエタノールの産生は無く、市販の発酵乳や乳酸菌飲料にも使用されているものと同菌種であることから、より使いやすいスターターであると思われる。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現時点では実用までには至っていない。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

鉄の存在形態および吸収効率の検討

玄米中の鉄は、主にフィチン酸と結合したフィチン酸鉄として存在している。つまり、炊飯を行うことで、どれだけフィチン酸量を減らすかが、鉄をはじめとしたミネラル吸収効率の増加を決定づけるのに重要な要因となる。しかしながら、本プロジェクトで CE-MS 法によるフィチン酸分析を試みたが、フィチン酸の抽出効率が悪く、定量するに至らなかった。今後、フィチン酸に関しては、CE-MS 法ではなく、液体クロマトグラフィーで分離を行う系を確立し、栄養強化米が炊飯前後でフィチン酸がどの程度含まれるかを明確にする必要がある。また、仮に多量にフィチン酸が含まれるのであれば、フィチン酸を分解する加工処理法を確立し、遊離鉄量を測定することが求められる。これが確立した後に、実際、加工処理の違いにより鉄吸収量の変動するのかを動物モデルを用いて検討する必要も残されている。

また、栄養強化米では、主にニコチアナミン鉄として篩管経路で鉄を玄米へ輸送していることが強く示唆された (図 11-12)。このため、玄米と精米中のニコチアナミンの定量も必要であり、これまでに検討は進めているがまだ定量できていない。ニコチアナミンはダイズにも多く含まれており、ヒトにおいては血圧低下作用もある有用物質として知られている。この点も含めて、ニコチアナミンの解析も進めていく必要がある。

栄養強化米の長期投与による安全性試験

鉄は生体内に存在する最も多い微量元素であり、難吸収性であると同時に難排泄性で、鉄の生体内量は輸送担体により厳密に制御されている。従って、鉄の過剰症はあまり問題視されていないが、これは青年層に限ることであり、サプリメントの摂取や高齢者においては、鉄の過剰蓄積を引き起こすことから問題とされている。そのため、老若男女を問わず、食生活から鉄分が多い栄養強化米を摂取していくことを考えると、実験動物を用いた長期投与試験による安全性について明らかにする必要があると考える。加えて、鉄欠乏状態はその他ミネラルバランスを増減させることが知られており、本研究成果においても、鉄欠乏時の肝臓において亜鉛が蓄積することを示している。今後は鉄欠乏のみならず、近年増加している亜鉛欠乏についても検証することで、より高付加価値な栄養強化米の作出につながるものとする。

品種登録の現状

品種検定に必要となる専用圃場 (低温栽培圃場、病害発生圃場など) については、各都道府県の農業総合試験場に設置されている。しかし、それら研究機関の施設で検定を依頼すると、東京農大独自の育成者権を維持できなくなることが分かり、権利の維持を考えると容易には他機関へ種もみの譲渡や品種化プロセスの委託を依頼できなかった。

こうしたことから、次年度以降は一般水田圃場で学生と教員で検定作業を行う。圃場内で栽培した水稻に対して、85項目の検定項目があり、それらを2年間にわたりデータを収集する。このデータをそろえた後に品種

の申請が可能となることから、2~3年後の申請となる。2021年度現在、農水省の指導を受けながら1年目の解析を実施しており、順調にtetsu1-BRの形質データを収集できている。利用している圃場は、東京農大・世田谷キャンパスから比較的距離に近い神奈川県横浜市田奈地区であり、2022年度も同圃場にて解析を実施する。一方でコロナ禍の中で長距離の移動を伴う作業は難しく、今後、水稻の品種登録作業は世田谷キャンパス内の未使用栽培スペース（屋上や温室周辺の未整備区域）を利用することができれば、よりスムーズに進むと考えられるので検討したい。

実用化に向けた試み

tetsu1原因遺伝子座が明らかになり、この領域内で変異があるかを現在も解析している。これにより、鉄を高集積する原因遺伝子が特定できた場合、その変異部位の情報を利用して、ゲノム編集によってイネ以外の作物、たとえばコムギ、オオムギ、モロコシといった主要なイネ科作物すべてで、鉄分強化を実現できる可能性がある。これが実現すれば、世界の全主要作物のミネラル栄養を改良できる可能性があり、そのインパクトは計り知れない。現在農生命研究所を中心に検討を進めている次世代育種センターにて、本遺伝子変異を活用したゲノム編集作物の開発を視野に遺伝子の特定を進めていく。

すでに完成している系統については、品種登録と並行して東京農業大学のブランド米として社会への積極的な発信も必要である。本プロジェクトの協力企業からは、すでに栄養強化米を利用した製品開発について前向きな協力依頼の声がかかっている。これらの協力要請や積極的な要望に関しては、農水省の新品種登録審査を待たずに、可能な範囲で早く製品化を進めていくことが重要である。

また、栄養強化米は見た目にも彩りがあり、東京農大附属稲花小学校で子どもたちのコメ作り体験の提案や給食を通じた食育教育への利用を提案できる。実際に、次年度の田奈圃場での栽培は、農大附属稲花小学校の学生と同一圃場で栽培を開始するため、折を見て小学校関係者に今後の教育への利用についても打診していく。また、12月に行われた東京農大のHUB構想シンポジウムでは多方面から教育への応用に対して興味を持っていただき、今後、学校給食への活用の支援案についてもお話をいただいている。そうした取り組みを通して、栄養強化米は科学的な裏付けのある付加価値を持った製品として広く認知されるように本プロジェクト後も推進をしていく。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) **Inoue H.**, Hanawa N., Katsumata SI., **Aizawa Y.**, Katsumata-Tsuboi R., Tanaka M., Takahashi N., Uehara M.: Iron deficiency negatively regulates protein methylation via the downregulation of protein arginine methyltransferase. *Heliyon* 2020, 6(10):e05059.
- 2) **Aizawa Y.**, **Suzuki T.**, **Saito A.**, Satoh K., Ogura T., Wakayama M., Soga T., **Tsuji Y.**, **Homma K.**, **Inoue H.** Trigonelline attenuates lipopolysaccharide-induced nitric oxide production and downregulates inflammation associated gene expressions. *Food preservation science*. 2020, 46(6):275-280.
- 3) **Saito A.**, Shinjo S., Ito D., Doi Y., Sato A., Wakabayashi Y., Honda J., Arai Y., Maeda T., Ohyama T., Higuchi K.: Enhancement of Photosynthetic Iron-Use Efficiency is an important trait of *Hordeum vulgare* for adaptation of photosystems to iron deficiency. *Plants*. 2021, 10, 234.

その他(総説・解説)

- 1) 井上博文、勝間田真一、勝間田(坪井)理恵、田中未央里、高橋信之、上原万里子、鉄欠乏状態における骨脆弱化とビタミン代謝変動、*Medical Science Digest* 3月号 (2月22日発刊),2021年2月(依頼あり)

その他(研究発表)

- 1) 相澤有美、齋藤彰宏、井上 順、鈴木司、本間和宏、井上博文、リポポリサッカライドによる一酸化窒素および炎症関連分子群に及ぼすトリゴネリンの作用機序 第61回日本食生活学会 2020年11月
- 2) 井上博文、相澤有美、鈴木司、辻井良政、大島宏行、齋藤彰宏、田中 未央里、高橋 信之、上原 万里子、2020年度日本フードファクター学会・日本農芸化学会西日本支部合同大会 2020年11月
- 3) 齋藤彰宏、市ノ川裕美、熊野順也、小鹿幸帆、中村健人、東元新、島田圭、加藤舞、大島宏行、大山卓爾、樋口恭子、鉄分を多く含む栄養強化米の選抜、2020年度 日本土壌肥料学会関東支部大会(埼玉大会) 2020年11月
- 4) 齋藤彰宏、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、東京農業大学 「産官学・地域連携 HUB 構想」シンポジウム分科会 1-3、2020年12月
- 5) 齋藤彰宏、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、AGROTECH SUMMIT 2021 (NIKKEI 主催)、2021年6-7月
- 6) 齋藤彰宏、熊野 順也、中村 健人、市ノ川 裕美、東元 新、島田 圭、小鹿 幸帆、大島宏行、相澤有美、辻井良政、大山 卓爾、樋口 恭子、鉄高集積イネ突然変異体 *tetsul* と紫黒米品種の交配後代の特性と遺伝型解析、2021年9月
- 7) 齋藤彰宏、川野 ななみ、中山 智美、小鹿 幸帆、島田 圭、加藤 舞、東元 新、市ノ川 裕美、中村 健人、熊野 順也、大山 卓爾、樋口 恭子、鉄高集積イネ突然変異体を利用した栄養強化イネ系統の育成と鉄集積遺伝子座の探索、日本育種学会、2021年9月
- 8) 辻井良政「農大の栄養強化米プロジェクトの概要」、総合研究所研究会 稲・コメ・ごはん部会 第10回セミナー 2021年9月
- 9) 齋藤彰宏「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」、総合研究所研究会 稲・コメ・ごはん部会 第10回セミナー 2021年9月
- 10) 大島宏行「栄養強化米安定生産への土壌肥料的アプローチ」、総合研究所研究会 稲・コメ・ごはん部会 第10回セミナー 2021年9月
- 11) 岡大貴「栄養強化米を使用した食品加工」、総合研究所研究会 稲・コメ・ごはん部会 第10回セミナー 2021年9月
- 12) 梶川揚申「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」、総合研究所研究会 稲・コメ・ごはん部会 第10回セミナー 2021年9月
- 13) 鈴木司「栄養強化米の食品機能」、総合研究所研究会 稲・コメ・ごはん部会 第10回セミナー 2021年9月

2020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～」	8,500,000

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	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	総括補佐

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

北海道の基盤産業は漁業である。しかし、漁業資源の衰退や燃料の高騰により、かつては遠洋漁業が主流であったが、近年は沿岸における待受け漁業に変遷してきた。それにより、アザラシの生息場所と漁場がオーバーラップするようになった。さらに、人間によるアザラシ利用が激減したため、その生息個体数は増加傾向にあり、加えて、地球温暖化による流水の減少により、アザラシの来遊域の南下拡大、来遊

期間の長期化等が確認されており、北海道におけるアザラシによる漁業被害は年々、深刻化している。アザラシは、捕食可能な魚を何でも捕食する広食性（ジェネラリスト）であるため、待受けの漁網のような集魚性が高い場所は、容易に採餌できるため餌場と化してしまうのである。このように、アザラシの個体数増加と漁業資源の衰退が相伴って、年間漁業被害額は4億円以上となっている。さらに、アザラシによる被害が激しく、漁業活動ができない地域も存在する。このことは、**北海道の社会問題となっているだけでなく、これは魚を食べる日本文化にも大きく影響している。**

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

5. 研究目的

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

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

6. 研究（実験）方法

①生態系サービス

本プロジェクトでは、えりも地域にて生息するゼニガタアザラシが、その特産であるミツイシコンブの繁茂への寄与度を検討するために、海水の栄養塩である窒素量を測定する。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、その窒素の由来を想定できる。例えば、 NH_4 が多ければ

動物由来、NO₃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 を測定する。アザラシ由来環境 DNA があれば、その海水の NH₄ 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 δ¹⁵N 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、どれぐらいの範囲でどのように影響を与えているか把握することを目的とした。

◎サンプリング

海水のサンプリングはえりも地域全域で 25 点、岩礁帯で 10 点、2020 年度の 2 月、3 月、6 月、8 月、12 月に採水した。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、岩礁帯で 5 点にて、各地域で 3 本ずつ採取した。

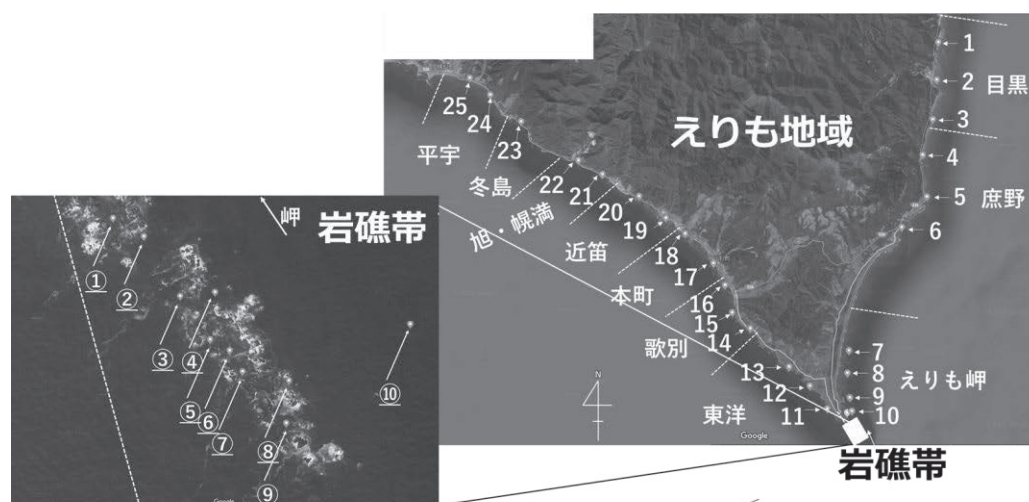


図 1 サンプリング地点

◎方法

1) 海水の窒素量の測定

オートアナライザーを使用し、全窒素 (TN)、溶存無機物窒素である NH₄, NO₂, NO₃ 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。

3) コンブの安定同位体分析

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。

◎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 NH₄ は動物由来の窒素であるため、目的変数を NH₄ とし、説明変数は地域・月・海水の栄養塩 (Chl, SiO₂) を入れ、NH₄ 量がどの要因で説明できるのかを調べた。また、コンブの δ¹⁵N 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(NH₄, NO₃, NO₂, DIN, TN, Chl, SiO₂) 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(NH₄,NO₃, NO₂,DIN,TN,Chl, SiO₂) を説明変数に入れて要因解析した。

②有効利用

(脂肪)

23 頭のアザラシから採取した脂肪の脂肪酸組成は、北海道大学水産学部の協力によりガスクロマトグラフィーにより分析した。アザラシの胃内容物、生息地、性別、体重により、脂肪酸組成が異なるか否かを調べて、差異があるのかを統計処理した。

(残滓)

アザラシ由来の残滓処理方法を検討するため、有効活用が進んでいるエゾシカで実践されている残滓処理を中心に調査を行った。

調査は、文献調査によって低コストで残滓処理が可能と判断された発酵処理施設の現地調査を行った。文献調査は、微生物によるエゾシカの減量化処理手引書（北海道 2014）を参考に、一部聞き取り調査も行った。現地調査は、枝幸モデルとしてエゾシカ残滓処理のモデルとなっている枝幸郡枝幸町の処理施設で行った。調査項目は処理方法、年間処理頭数（想定処理頭数）、施設設置費、処理費を含む維持費および処理完了までの日数とした。

③経済効果

▶アザラシの被害とコンブとの関係性の実施把握調査

今年度は、昆布漁師へのヒヤリング調査を行い、本プロジェクトの生態系サービスの結果を踏まえ、自然科学分野の知見を活用した評価シナリオの検討を行う予定とした。

▶アザラシの観光資源の実施把握

今年度は、えりも以外の地域でのアザラシツアーの実態調査（別海町、厚岸町など）やアザラシツアー参加者へアンケート調査をすることによって、アザラシの観光資源としてのニーズはあるのか？ ツアー参加者からアザラシの観光アイテムとしての価値を検討する予定とした。

7. 研究成果

①生態系サービス

▶海水の NH₄ 量・・・GLM の結果、地域と月が選択された。その要因と NH₄ の関係を調べた結果を図 2 に示した。その結果、岩礁帯がほかの地域より有意に NH₄ の量が高かった。NH₄ 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 3 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 NH₄ の値が高かった。さらに、6 月、8 月、12 月においての岩礁帯はそれ以外の地域よりも有意に NH₄ 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 NH₄ 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。

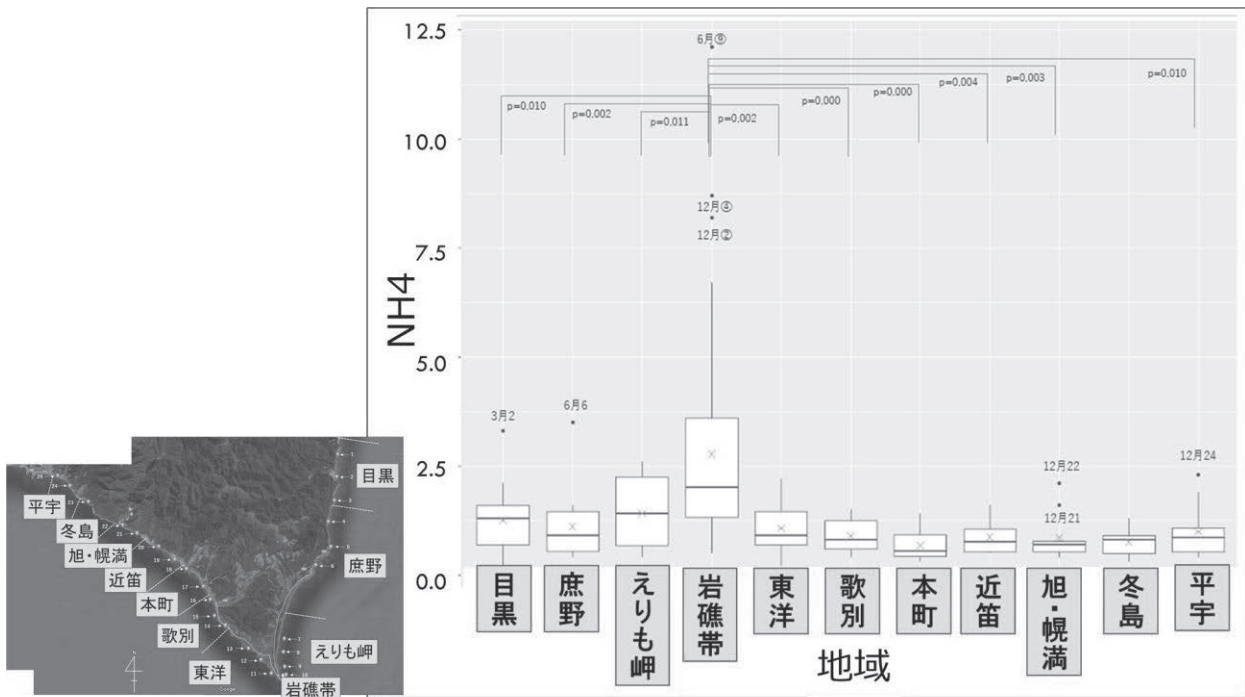


図2 地域別の海水のNH4量の関係

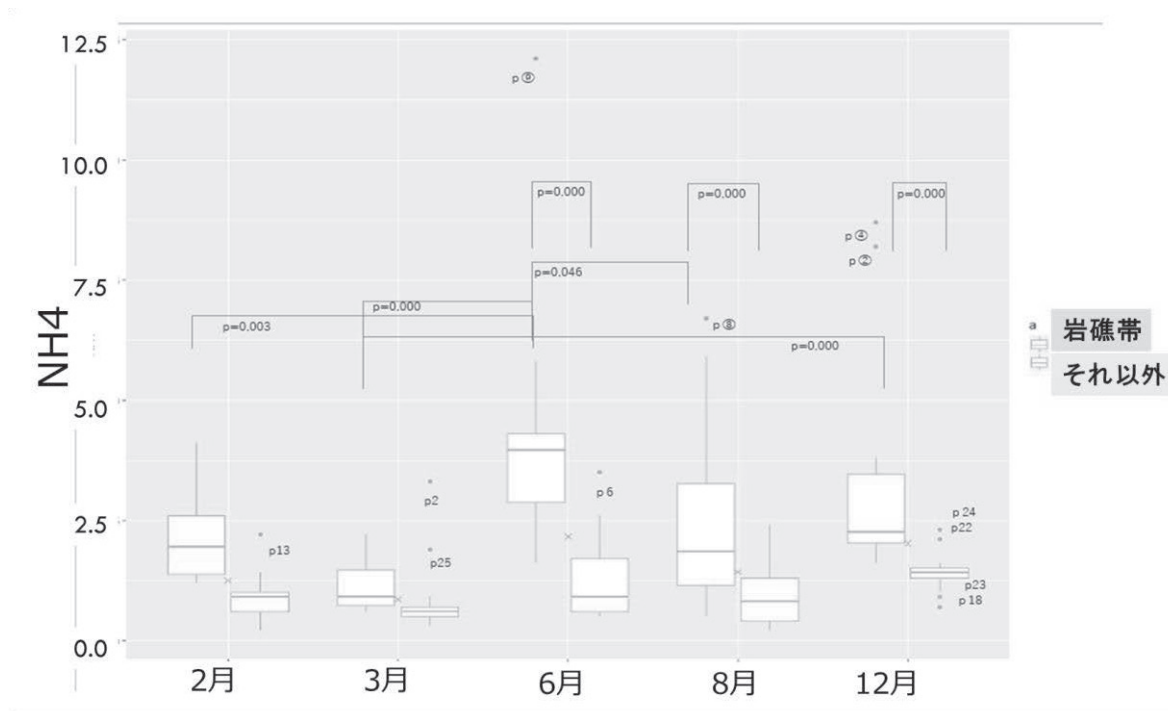


図3 月別・地域別の海水のNH4量

▶海水の環境DNA量・・・GLMの結果、地域とNH4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4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4に示したように、NH4と環境DNA量の関係には弱い相関がみられた。

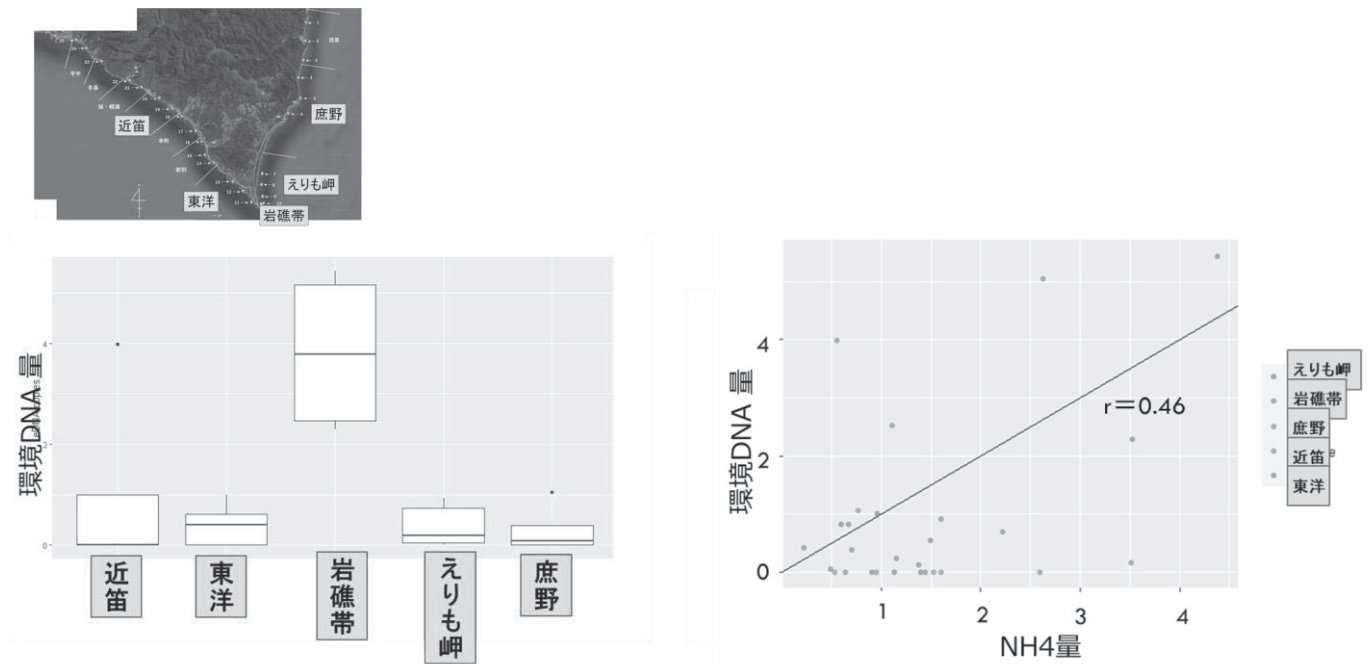


図4 地域およびNH4の量と環境DNA量の関係

▶コンブの $\delta 15N$ 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 $\delta 15N$ の関係を示した(図5)。その結果、コンブの $\delta 15N$ 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。

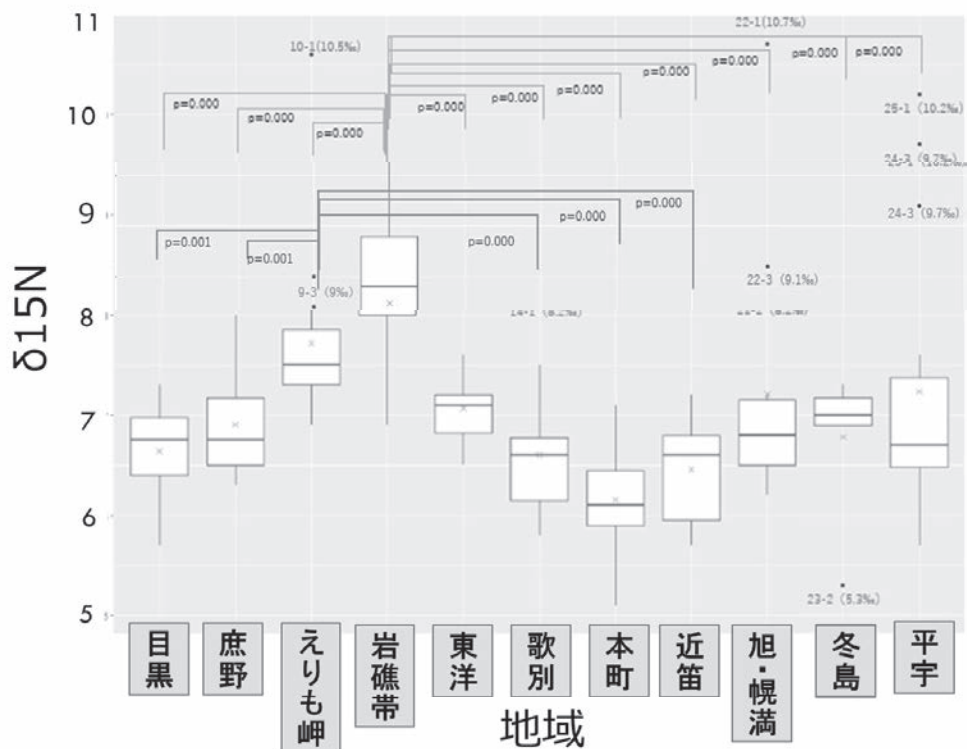


図6 地域とコンブの $\delta 15N$ の関係

◎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アンモニウム窒素が多く海洋に存在し、その値は他の地域とまた周年高い傾向がみられた。また、コンブの $\delta 15N$ も岩礁帯で最も高くなり、このことは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 $\delta 15N$ 値は、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、コンブは長い年月をかけて窒素を蓄積していることが起因しており、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)

＜アザラシの性状と脂肪酸組成＞

主食としている生物により脂肪酸組成に違いがあるか否かを検証するために、アザラシの胃内容物を調べた。主食としている生物およびその個体数は キュウリウオ 4 頭、ニシン 4 頭、アカイカ 4 頭、イカナゴ 4 頭、スケトウダラ 3 頭、マダコ 3 頭であった。脂肪酸組成と主食生物の関係を図 1 に示した。それぞれの脂肪酸において、食性による違いは認められなかった。不飽和脂肪酸と飽和脂肪酸の比率も食性による違いは認められなかった(図 7, 図 8)。

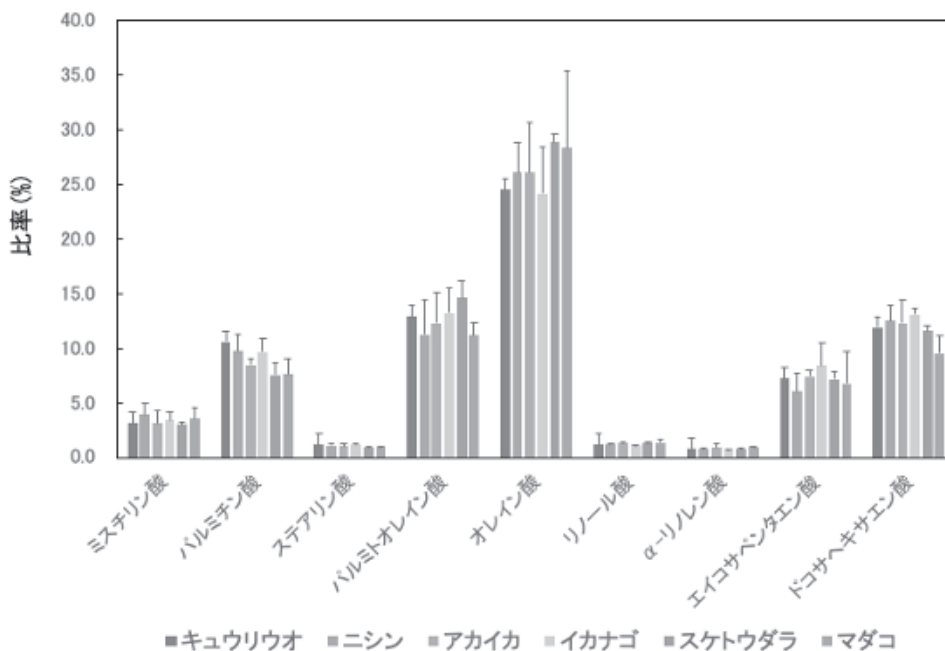


図 7 アザラシの主食生物と脂肪酸組成の関連

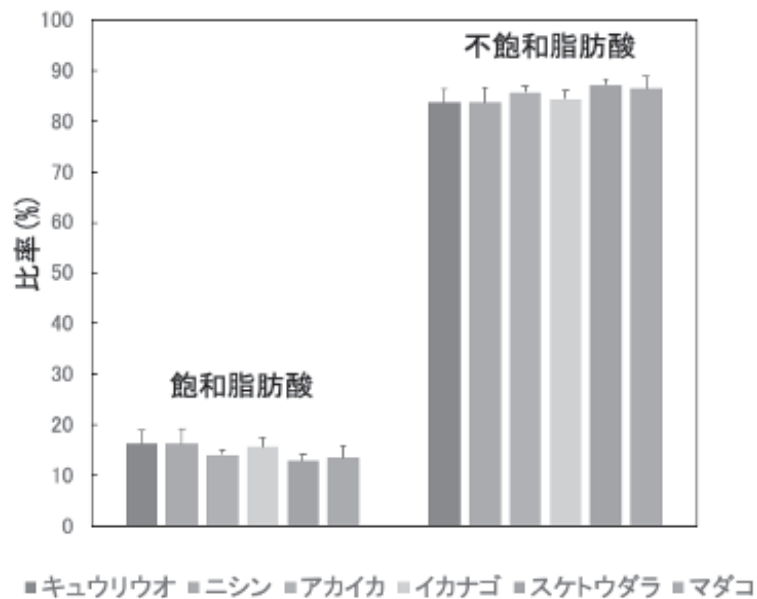


図 8 アザラシの主食生物と脂肪酸飽和度の関連

また、それぞれの脂肪酸組成は性別（雄と雌）、生息地（礼文島とオホーツク）による違いが認められなかった。

一方、アザラシの体重を 40 kg 以下（5 頭）と 100 kg 以上（4 頭）に分けて脂肪酸組成を調べると、小型のアザラシのほうが大型よりも飽和脂肪酸の割合が有意に小さかった（図 9）。

以上の結果から、平均的な体重のアザラシの脂肪酸組成は、食性や生息地、性別に関係なく均一であることが示唆された。個体によるばらつきが小さいことは、油を商品化するときには有益な特徴であると考えられる。

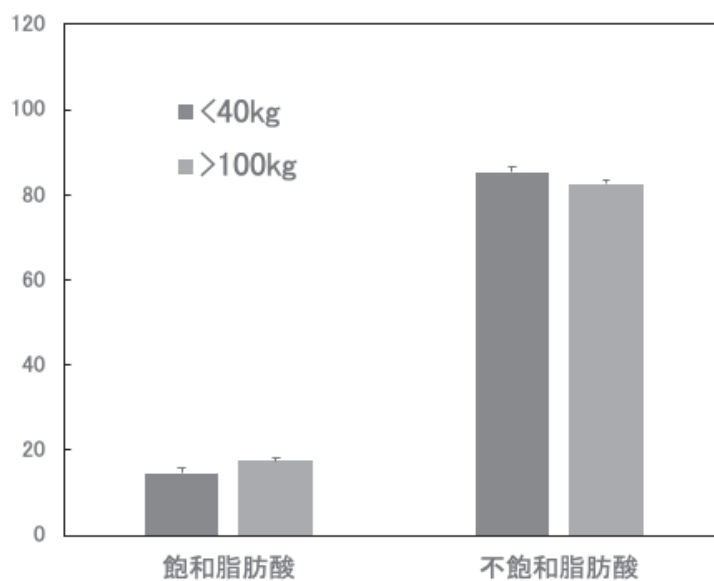


図 9 アザラシの体重と脂肪酸飽和度の関連

(残滓)

文献調査の結果、エゾシカの残滓処理方法は主に焼却処理と発酵処理があり、発酵処理については自動攪拌装置をしようしたものと同じ堆肥処理を応用した処理が行われていた。このうち、同じ堆肥処理を応用した残滓処理方法は処理日数がかかるものの、処理コストが低いことが考えられた。

現地調査の結果、枝幸町では年間 500 頭規模の処理を想定した施設としていた。微生物処理を行うことから発酵処理は菌床を作成した後、エゾシカの残滓、牛糞堆肥、菌床を混合し、サンドイッチ状に菌床の間に残滓を入れ処理していた。通気性を持たせるため、処理物は最低 1 日 1 回攪拌していた。処理期間では骨の関節部分および毛皮の一部を残し、概ね 4 週間で処理が終了するとのことであった。なお、市販の菌床を使用している他の処理施設では、枝幸方式よりも短期間で関節部分を含む残滓処理が終了しているようであった。

アザラシ由来の残滓の発酵処理方法の調査の結果から、一般的に海棲哺乳類の骨は陸上の哺乳類よりもろいことが知られていることから、アザラシ由来の残滓の処理においては、エゾシカのより短い期間で残滓処理が終了すると考えられる。

今後は、アザラシの解剖残渣を使用し、実験規模の処理施設で残滓処理について検討を行う予定である。

③経済効果

▶アザラシの被害とコンブとの関係性の実施把握調査

昆布漁師へのヒヤリング調査を行い、本プロジェクトの生態系サービスの結果を踏まえ、自然科学分野の知見を活用した評価シナリオの検討を行う予定であったが、新型コロナウイルスの影響で実施できなかった。

▶アザラシの観光資源の実施把握

えりも以外の地域でのアザラシツアーの実態調査（別海町、厚岸町など）やアザラシツアー参加者へアンケート調査をすることによって、アザラシの観光資源としてのニーズはあるのか？ツアー参加者からアザラシの観光アイテムとしての価値を検討する予定であったが、新型コロナウイルスの影響で実施できなかった。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

① 生態系サービス

2021 年度の研究内容

▶論文執筆

② 有効利用

2021 年度の研究内容

▶アザラシの不飽和脂肪酸の効用（抗炎症作用&血管拡張機能）の解明

▶発酵処理の実施

▶発酵処理済み物質の化学成分分析および植物バイオアッセイ分析

③ 経済的評価

2021 年度の研究内容

- ▶自然科学分野の知見を活用した評価シナリオの検討
- ▶自然科学分野の知見を活用したアザラシの経済的価値の評価

10. 公表した成果一覧

その他

- 1) 高野延道・小林万里 2019. 北海道 3 地域に來遊するゴマフアザラシ(*Phoca largha*)の生態系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, 中央大学後樂園キャンパス
- 2) 栗林貴範 (2021) 「コンブを育てるアザラシ—栄養源としての隠れた役割—」, 資源管理海洋環境シリーズ

2020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	3,000,000

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	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	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	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

2020年6月9日～2021年3月31日（3年計画の1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。

ヒマラヤは造山運動により渓谷の浸食が進行することで兩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、結果氷河の表層面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。

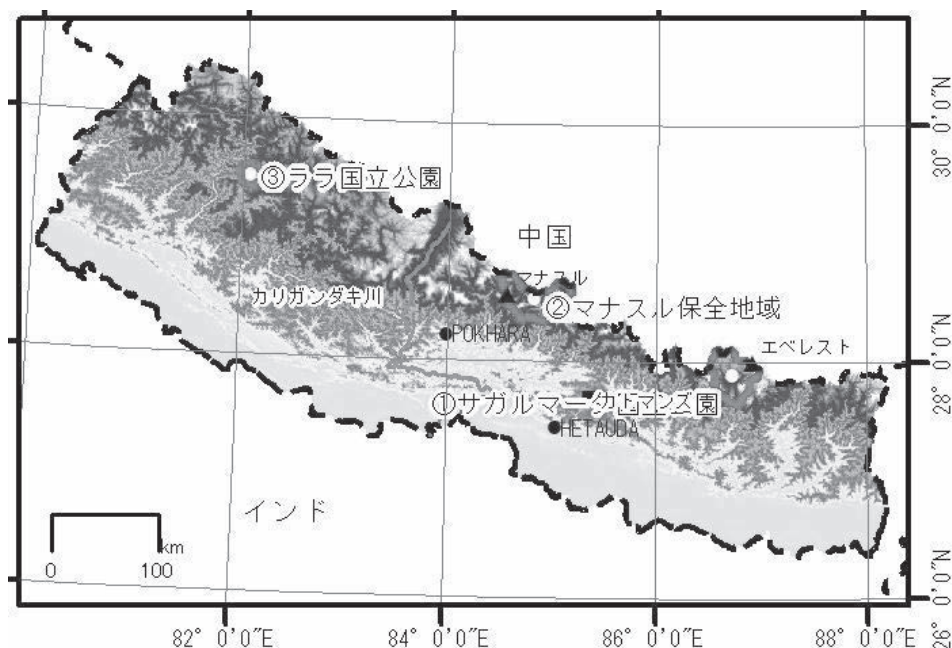


図1 本研究の対象地

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。

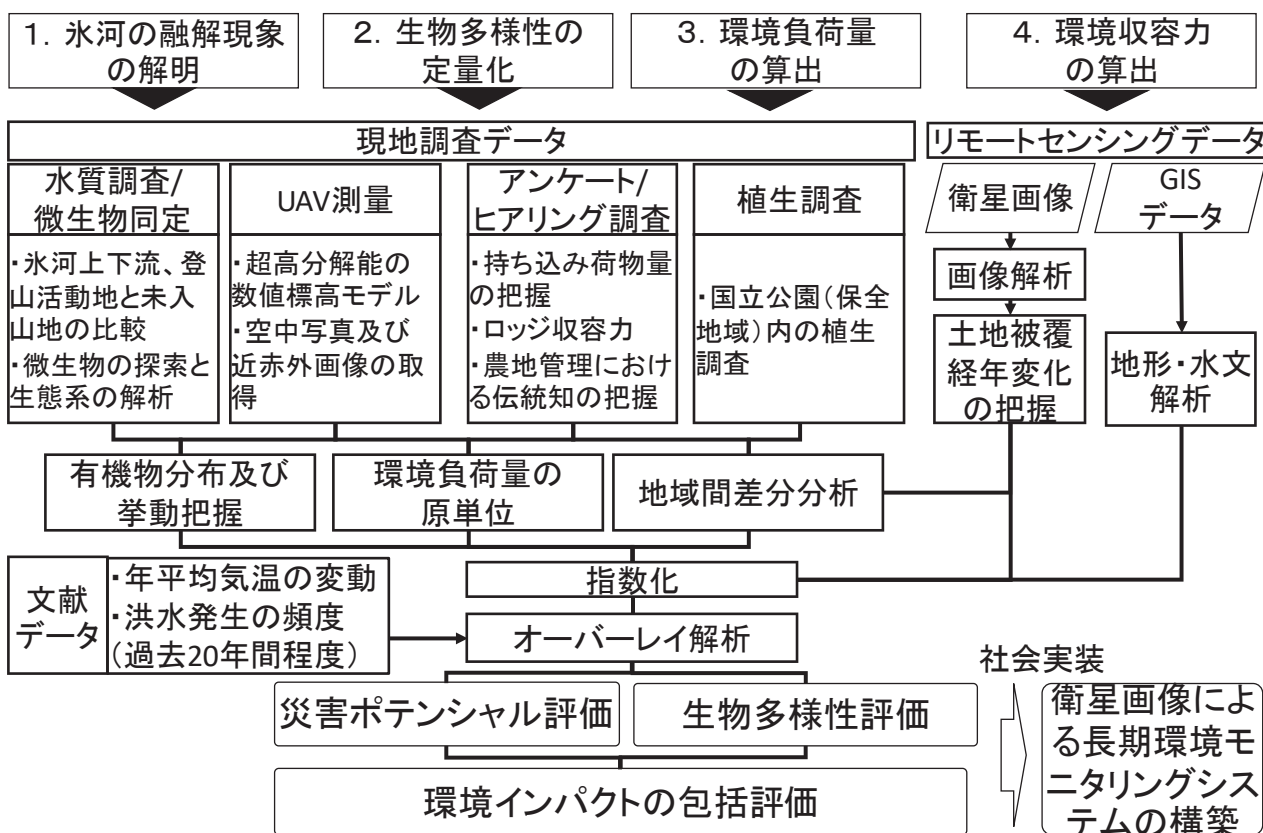


図 2 研究フロー

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

生物多様性の定量化に資するための現地調査 (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) を実施できなかったため、研究成果はない。

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

研究計画では、現地調査により調査対象地（エベレスト・ベースキャンプまたはマナスル・ベースキャンプ）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を行う予定であった。しかしコロナ災禍のため現地調査の実施はできなかつたため、既存する高分解能衛星画像のアーカイブ検索と収集を行い、高分解能衛星画像を用いた両ベースキャンプ上に設置されるテントの地物判読の試みを行った（図 3）。

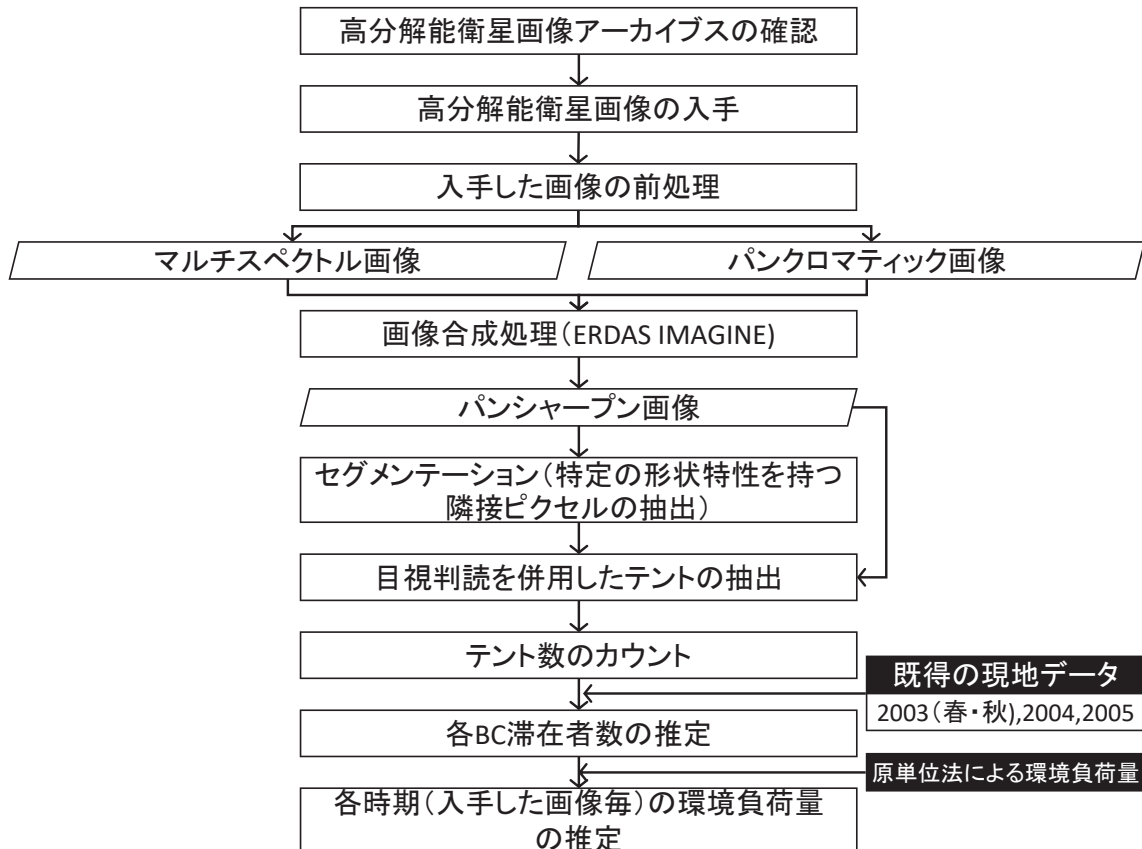


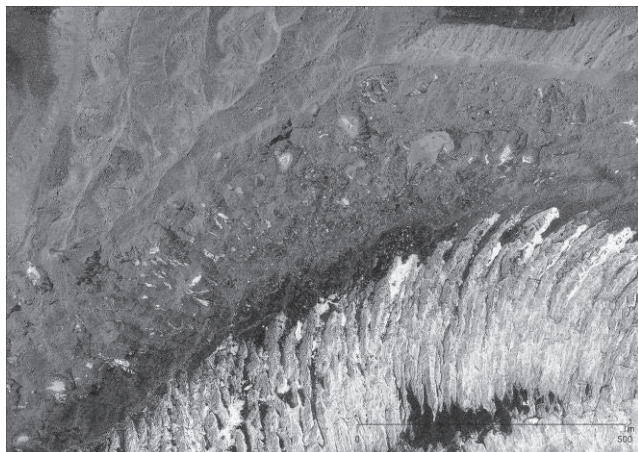
図 3 高分解能衛星画像を用いた画像解析フロー

① 高分解能衛星画像アーカイブの確認及び入手

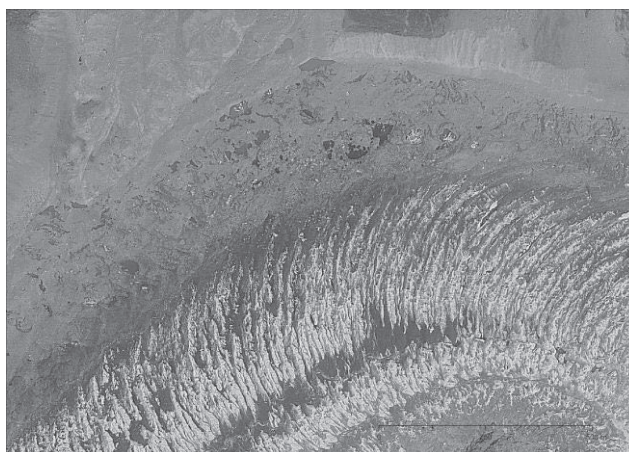
日本スペースイメージング社（JSI）が整備、提供している画像検索サービス ISS を用いて、本研究の対象地であるサガルマータ国立公園内のエベレスト・ベースキャンプ付近及びマナスル保全地域内のマナスル・ベースキャンプ付近の画像検索を行った。商用ベースの高分解能衛星画像の撮影は 1999 年 9 月 24 日に打ち上げられた IKONOS（イコノス）に始まり、2000 年から画像のアーカイブが存在する。画像検索では 2000 年から 2020 年の 20 年間の毎時期において、エベレスト・ベースキャンプについてはエベレスト登山の入山期にあたる 4 月及び 5 月の二ヶ月間に絞り、マナスル・ベースキャンプについてはマナスル登山の入山期にあたる 9 月及び 10 月の二ヶ月間にそれぞれ絞り、検索を行った。その結果、地物の判読や反射特定の解析に供することが可能な高分解能衛星画像は、エベレスト・ベースキャンプにおいては 7 シーンであり、マナスル・ベースキャンプにおいては 1 シーンあった（表 1）。

表 1 サガルマータ国立公園(エベレスト・ベースキャンプ付近)における高分解能衛星画像アーカイブス状況
(JSI: 日本スペースイメージング・画像検索サービス ISS より加工)

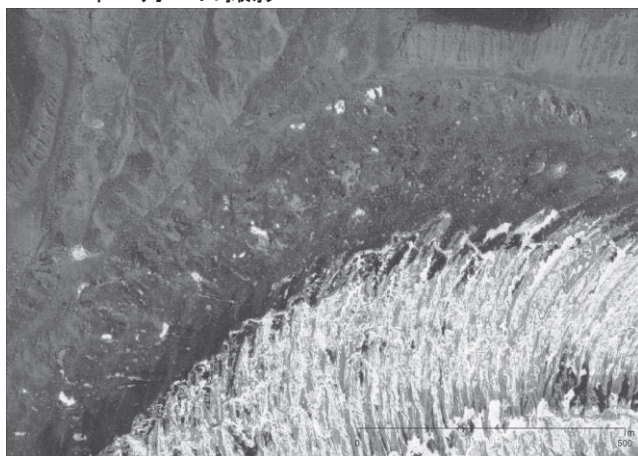
撮影日	衛星種別	オフナディア角 (度)	撮影仰角 (度)	撮影方位角 (度)	雲量率(%)	パンクロセンサ 解像度(m)	所有 有無
1 2016/05/14	WorldView-2	10	79	297.828	3	0.475	有
2 2015/05/08	GeoEye-1	42	42	322.381	0	0.74	無
3 2014/4/26	QuickBird	29	59	256.89	0	0.678	無
4 2013/05/23	GeoEye-1	7	82	33.017	11	0.418	有
5 2009/5/24	GeoEye-1	ND	74	273	31	0.5	有
6 2007/5/23	IKONOS	12	77	50.041	0	0.8	有
7 2003/05/07	QuickBird	26	62	358.156	3	0.736	有



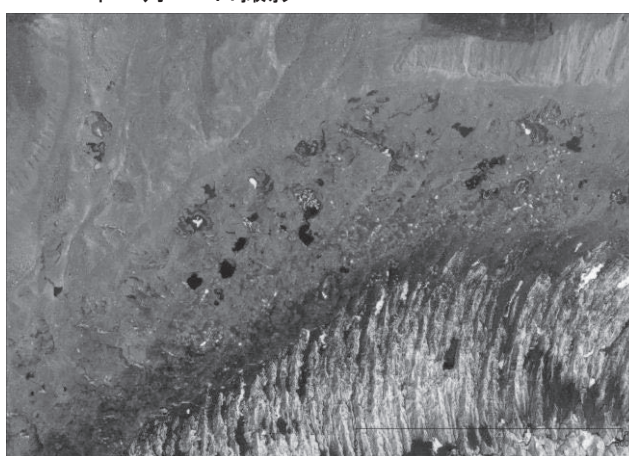
・2003年5月7日撮影



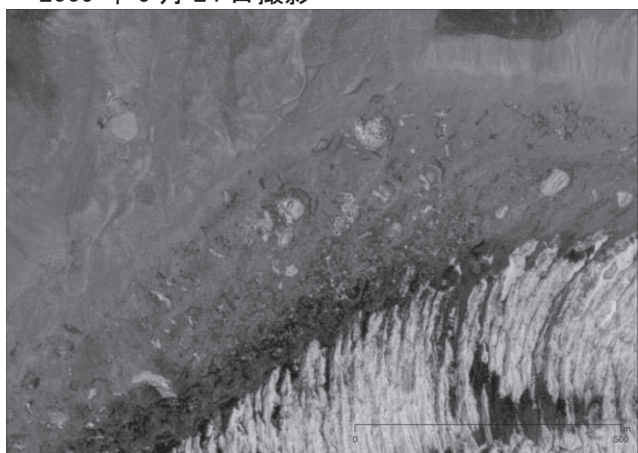
・2007年5月23日撮影



・2009年5月24日撮影



・2013年5月23日撮影



・2016年5月14日撮影

図 3 エベレスト・ベースキャンプ付近の可視画像(5 時期)

表 2 マナスル保全地域(マナスル・ベースキャンプ付近)における高分解能衛星画像アーカイブス状況
(JSI: 日本スペースイメージング・画像検索サービス ISS より加工)

撮影日	衛星種別	オフナディア角 (度)	撮影仰角 (度)	撮影方位角 (度)	雲量率(%)	パンクロセンサ 解像度(m)	所有 有無
1 2011/10/11	WorldView-2	20	67	131.677	0	0.521	有

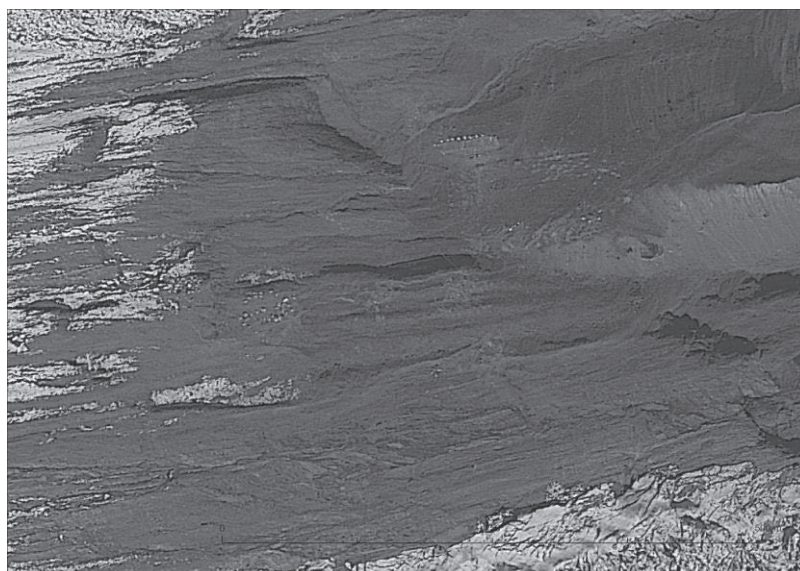


図 4 マナスル・ベースキャンプ付近の可視画像(1 時期)

事前に入手した画像も含めこのうちエベレスト・ベースキャンプは 5 シーン (2003 年 5 月 7 日撮影、2007 年 5 月 23 日撮影、2009 年 5 月 24 日撮影、2013 年 5 月 23 日撮影及び 2016 年 5 月 14 日撮影) について、マナスル・ベースキャンプについては 1 シーン (2011 年 10 月 11 日撮影) を入手した (図 3 及び図 4)。いずれも地上分解能が 1m 未満の解像度をもつため、氷河上に設営されているテント等の地物の範読が可能である。またマルチスペクトル画像 (近赤外帯、可視光帯 (赤・緑・青)) のため、各バンド (画像) 間演算により、地物の自動抽出や画像分類に供することができる。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。

②入手した画像の前処理

入手した両地区及び各時期の高分解能衛星画像を画像解析に供するため、画像解析ソフト ERDAS IMAGINE2016 を用いて前処理を行った。各時期の衛星画像は、4 バンド (近赤外・赤・緑・青) を含むマルチスペクトル画像と高分解能であるモノクロのパンクロマティック画像の 2 種類を有する。この 2 種の画像を用いて画像処理によりパンクロマティック画像が有する高分解能のマルチスペクトル画像の生成 (パンシャープン画像) を行った。

③セグメンテーション (特定の形状特性を持つ隣接ピクセルの抽出)

生成された両地区及び各時期のパンシャープン画像を用いて、画像内に存在する地物 (テント) の位置を特定するため、画像のセグメンテーションを行った。このセグメンテーションとは特定の形状特性を持つ隣接ピクセルの抽出する処理のことを指し、別名オブジェクト指向分類とも呼ばれる。解析には ArcGIS Pro2.7 を用いた。

④セグメンテーション画像及び目視判読を併用したテントの抽出及びテント数

生成されたセグメンテーション画像と目視判読を併用し、両地区及び各時期のベースキャンプにおけるテントの抽出及びテント数の把握を行った。その結果を図5から図9に示す。

まずエベレスト・ベースキャンプについてみると、2003年5月7日撮影の画像よりテント数は389張判別され、2009年5月24日撮影の画像よりテント数は378張判別され、2009年5月24日撮影の画像よりテント数は444張判別され、2013年5月23日撮影の画像よりテント数は502張判別され、2016年5月14日撮影の画像より609張のテントが判別できた。

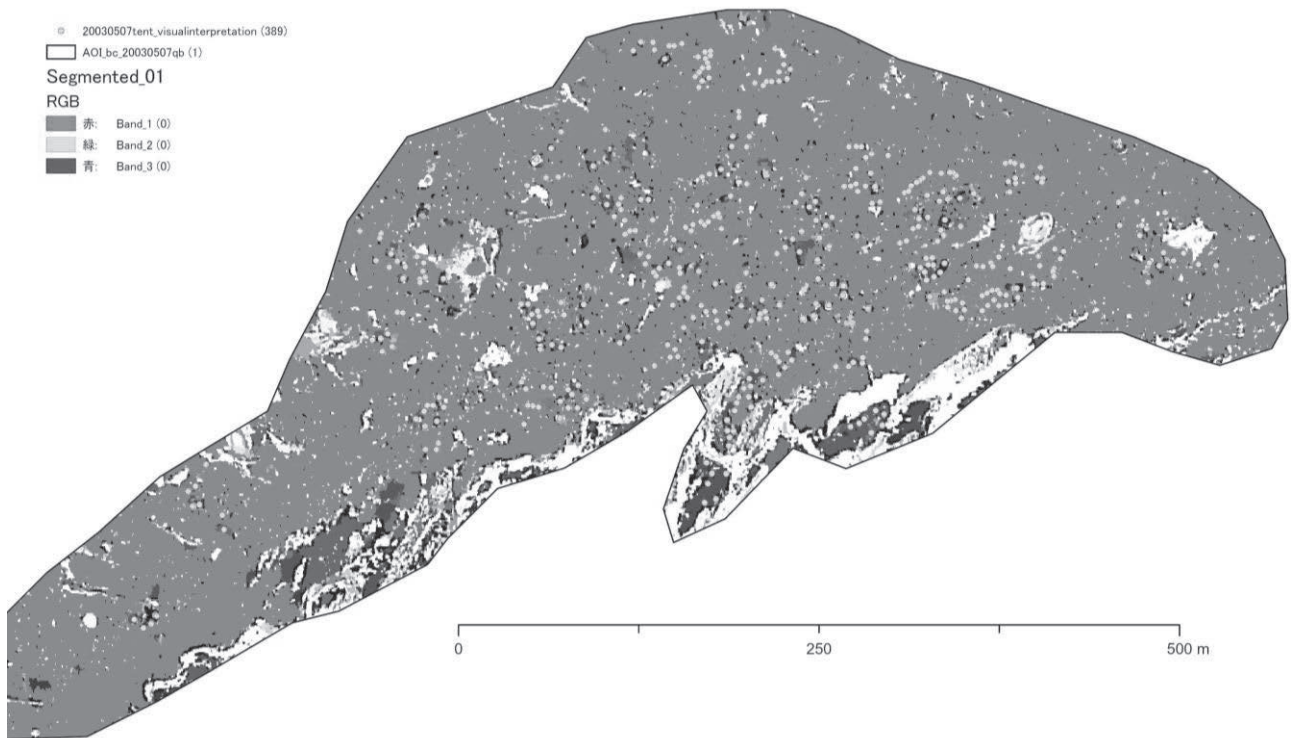


図5 2003年5月7日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

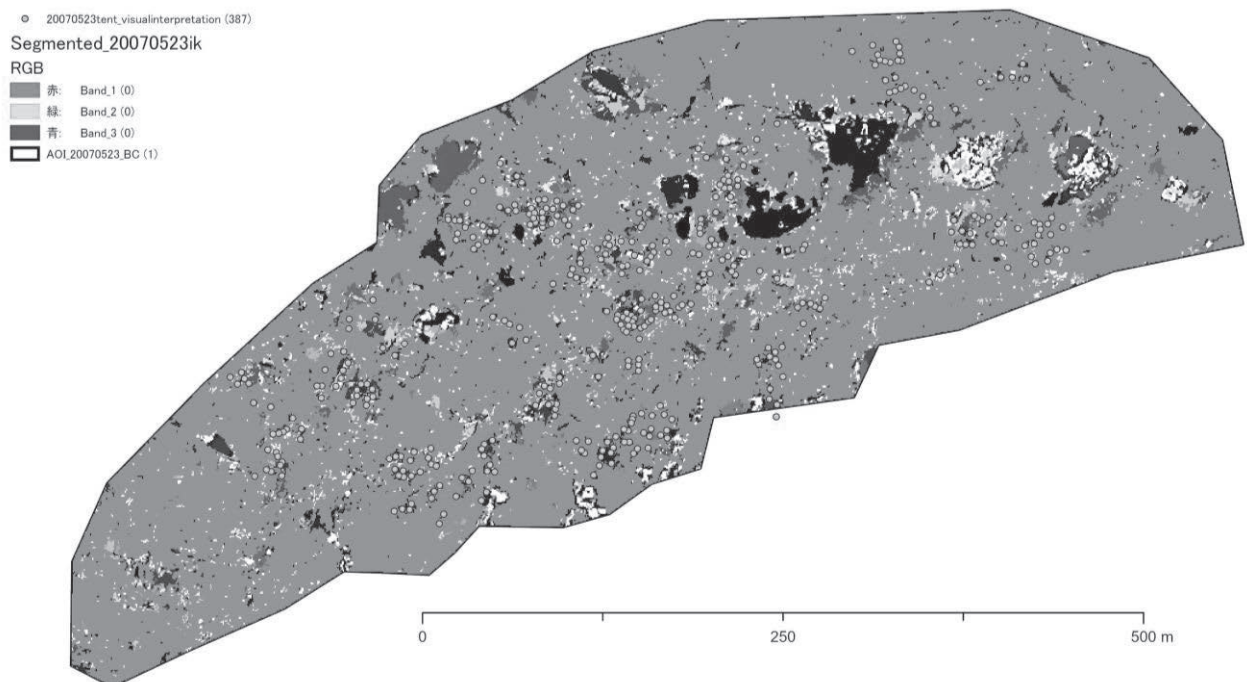


図6 2007年5月23日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

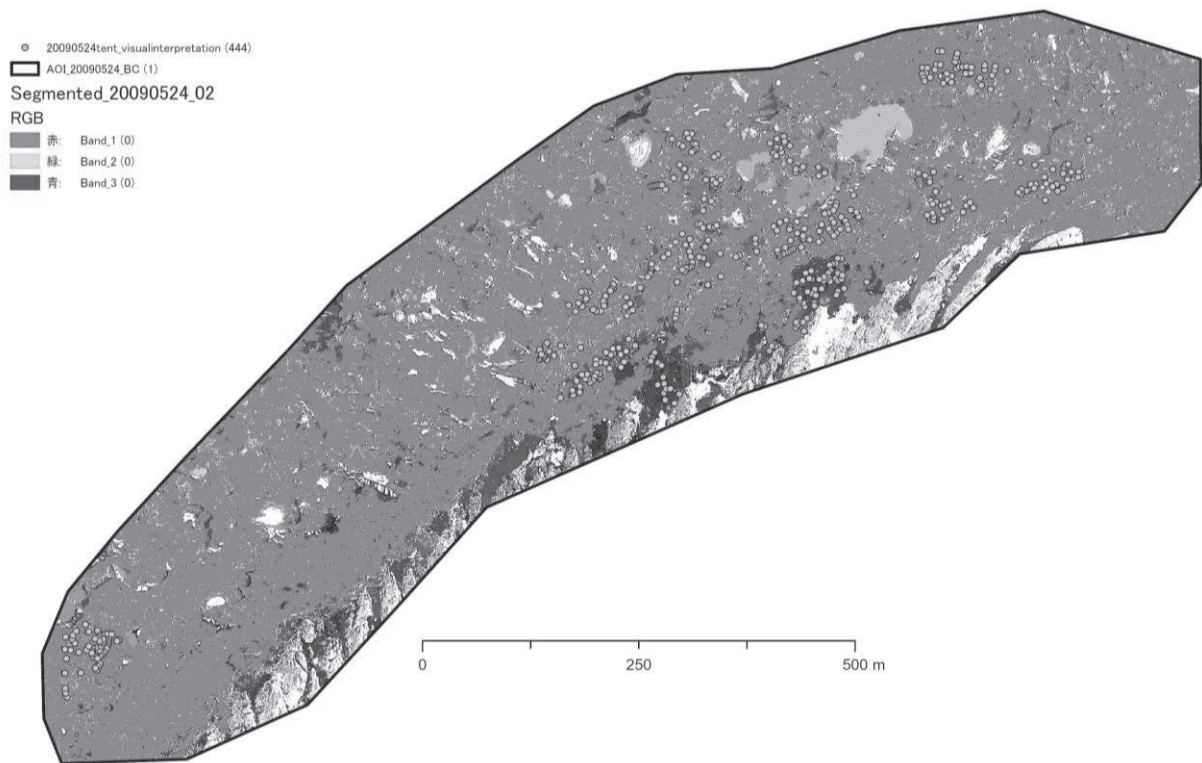


図7 2009年5月24日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

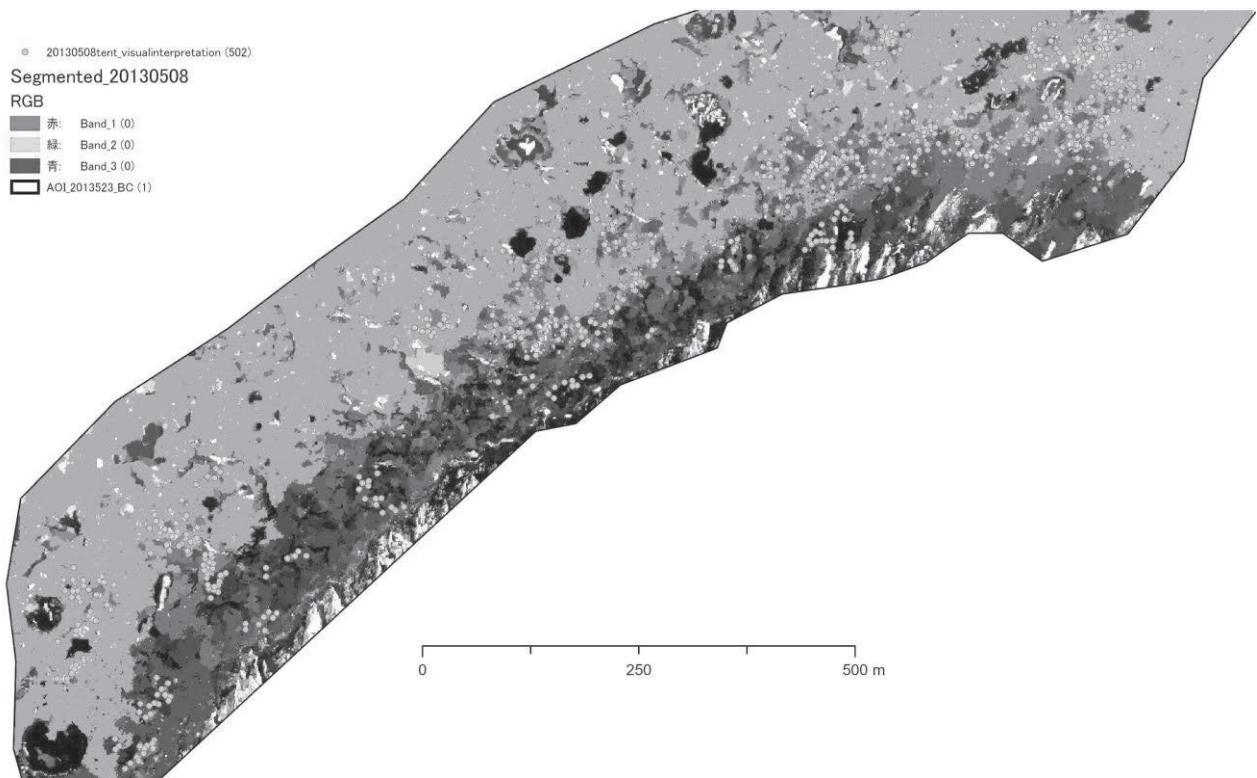


図8 2013年5月23日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

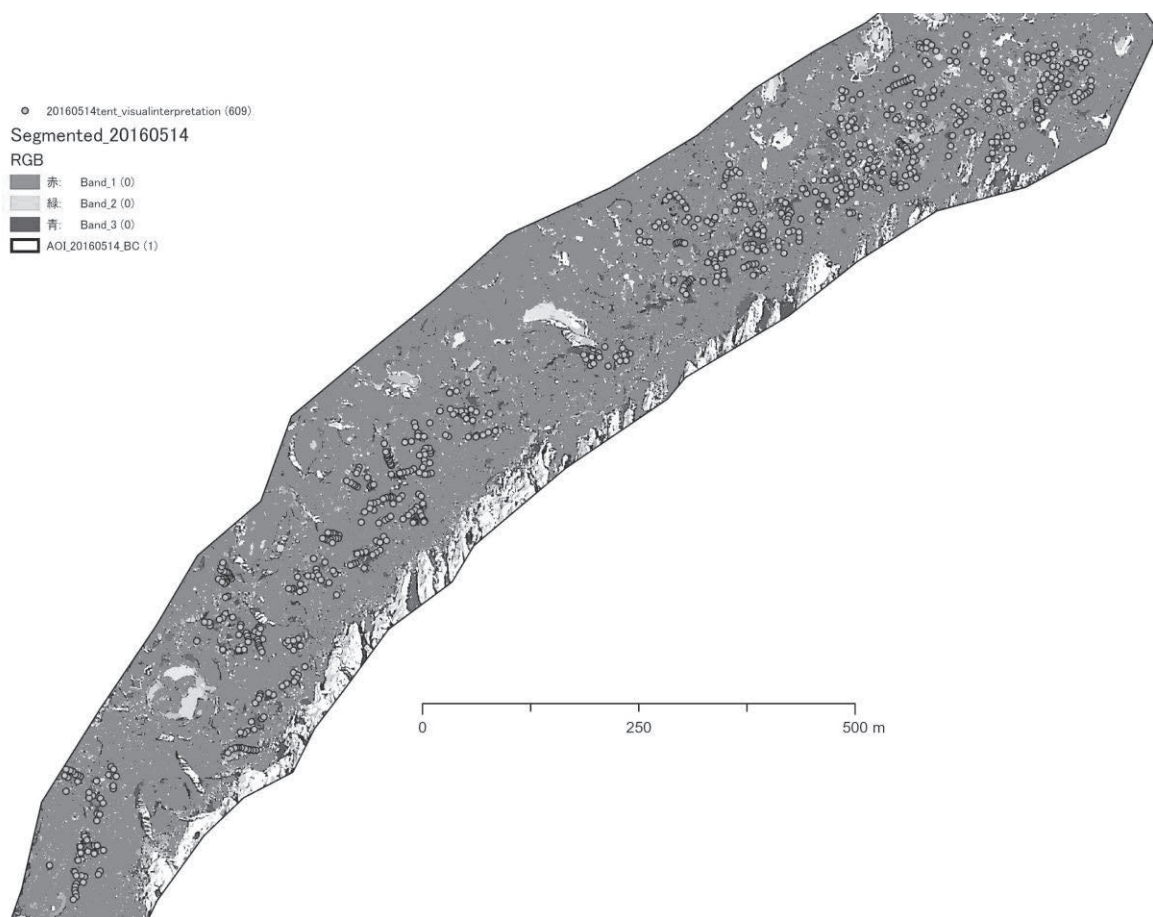


図9 2016年5月14日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

つぎにマナスル・ベースキャンプについてみると、2011年10月11日撮影の画像より58個のテントが判別できた（図10）。マナスルの登山に適する時期は、9月中と言われている。そのためベースキャンプの滞在する期間は8月末から9月いっぱいとなる。ネパール政府の統計資料によれば、2011年のマナスル登頂者数は187人である（ただしプレモンスーン及びポストモンスーンの合計値）。このことからすくなくともポストモンスーン期には百数名の単位でベースキャンプに滞在していたものと推測される。

しかし画像データから抽出されたテント数とは大きく差分が生じている。これは入手した画像は10月11日撮影のため、多くの登山隊が撤収した後であり、大きく差分が生じたものと考えられる。マナスルエリアにおいては高分解能衛星画像のアーカイブ数がもともと少なく、その中で画像内の雲量が少なく、テントの抽出に適する時期の画像で且つオブジェクト指向分類（セグメンテーション処理）に適する画像を選ぶことが困難な状況である。

したがって、リモートセンシング画像を用いた登山活動で生じる環境負荷のモニタリングシステムを構築するためには、マナスル・ベースキャンプにおける登山活動時の現地データ（ベースキャンプ滞在者数、テントの位置や数）の取得が必須となる。



図10 マナスル・ベースキャンプにおけるセグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数（1時期・2011年10月11日撮影）

⑤各ベースキャンプの滞在者数の推定

エベレスト・ベースキャンプを対象に、研究代表者がこれまで取得した現地データ（表2）を元に、現地調査を実施していない他時期におけるベースキャンプ滞在者数の推定を試みた。まず、現地データよりベースキャンプ内のテント数と滞在者数との関係について相関分析を行った。4時期（2003年春、2003年秋、2004年、2005年）の現地データより、各時期のテント数は現地での測量調査に基づき把握している。また滞在者数は、ベースキャンプに滞在している各登山隊へのアンケート調査より把握した数である。各時期のテント数と滞在者数は、近似する値を示す。そこでテント数をX軸にプロットし、BC滞在者数をY軸にプロットして、グラフを作成した（図11）。

表2 エベレスト・ベースキャンプにて取得した現地調査データ

		2003年 プレモンスーン	2003年 ポストモンスーン	2004年 プレモンスーン	2005年 プレモンスーン
総登山隊数		33	4	26	27
ベースキャンプ滞在者数		624	43	472	508
テント数	個人テント	484	31	347	398
	トイレ/シャワーテント	80	7	60	79
	キッチン・ダイニングテント	101	6	88	95
	小計	665	44	495	572
	持ち込まれた荷物の総量(トン)	115.6	7.8	105	84.4
運搬に使用したヤクの数	持ち込み時	2,313	106	1,709	1,457
	持ち帰り時	1,008	68	773	978
運搬に使用したポーターの数	持ち込み時	N/A	57	416	459
	持ち帰り時	N/A	30	362	313

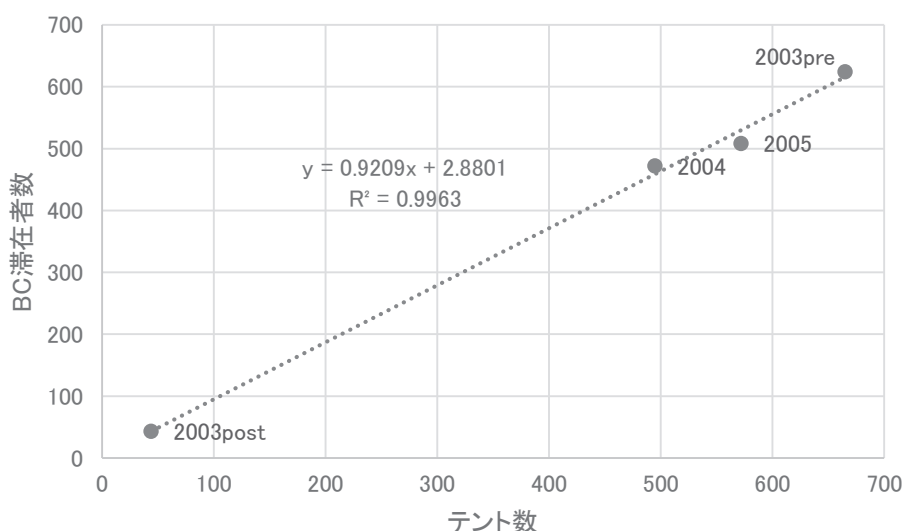


図 11 現地調査データを用いたベースキャンプ内のテント数と滞在者数との相関分析

併せて両者の関係から、近似式と決定係数を算出した。これをみると、現地データから得られたベースキャンプ内のテント数と滞在者数の関係式は次に示すとおりに得られた（式 1）。なお R^2 （決定係数）は 0.9963 であった。

$$y = 0.9209x + 2.8801 \quad (\text{式 1})$$

この結果をもとに、現地調査が未実施で入手した高分解能衛星画像の 4 時期（2007 年、2009 年、2013 年、2016 年）のベースキャンプ滞在者数の推定を行った（表 3）。これをみると、2007 年ではテント数 387 張に対して推定ベースキャンプ滞在者数は 359 人、2009 年ではテント数 444 張に対して推定ベースキャンプ滞在者数は 412 人、2013 年ではテント数 502 張に対して推定ベースキャンプ滞在者数は 465 人、2016 年ではテント数 609 張に対して推定ベースキャンプ滞在者数は 594 人となった。各時期のエベレスト登頂者数と比較しても、増減数の傾向はほぼ同様であり、推定されたベースキャンプの滞在者数はある一定の妥当性をもつ数値であることがいえる。

しかし、判別精度の検証として 2003 年の高分解能衛星画像から判読したテント数と現地の測量調査で得られた現地データを比較した。その結果、2003 年の現地調査ではベースキャンプ内のテントは 665 張であったのに対し、高分解能衛星画像から判読したテント数は 389 張であり、差分は 276 張生じた。これは、2003 年 5 月 7 日撮影の Quick Bird・高分解能衛星画像から判読したテント数が明らかに少なく、画像判読に課題が生じている。これは判読に使用した画像が、Quick Bird を使用しており、地上分解能が 0.6m と他の時期の画像に比べやや解像度が低めであること、オブジェクト指向分類のパラメーター設定の最適化がなされていない、加えて最終的にテントの抽出に行っている目視判読の精度が低いことが原因として挙げられる。さらなる検証が必要であるとともにオブジェクト指向分類（セグメンテーションの方法）の再検討が課題となる。

表3 現地調査が未実施の4時期（2007年、2009年、2013年、2016年）のベースキャンプ滞在者数の推定

年	テント数	推定BC 滞在者数	実数値		差分		登頂者数
			テント数	BC滞在者数	Δテント数	ΔBC滞在者数	
2003	389	361	665	624	276	263	154
2007	387	359	—	—	—	—	258
2009	444	412	—	—	—	—	368
2013	502	465	—	—	—	—	578
2016	609	564	—	—	—	—	451

⑥各時期の環境負荷量の推定

（1）登山者一人あたり環境負荷量

エベレスト・ベースキャンプを対象に、研究代表者がこれまで取得した現地データより得られているエベレスト・ベースキャンプにおける原単位法を用いた環境負荷量の推定を行った（図12）。環境負荷量は、登山者から排出される「尿」、「生活雑排水」と物資運搬で使用されるヤク等から排出される「糞尿」の量を合算した。なおヒト（登山者）の大便については、回収システム（ルール）があるため、環境負荷量の算出に際し除外した。

既往文献より、登山者一人が1日あたり排出する大便は110g、尿は1.5ℓ、生活雑排水は5.0ℓとした。一方、荷物運搬に使用されるヤクの糞尿量については、3.6kgとした。次に、「尿（登山者の排尿量）」、「生活雑排水」及び「ヤクの糞尿量」の3つの原単位を用いて、登山者一人あたりの環境負荷量の算出を行った。エベレスト・ベースキャンプにおける滞在日数は、各登山隊へのアンケート調査より約50日であることが分かっている。「尿（登山者の排尿量）」、「生活雑排水」の原単位の値に滞在日数を乗じることで、大便は5.5kg、尿は60ℓ、生活雑排水は250ℓの値が得られる。一方、登山者一人あたり持ち込まれる荷物は、各登山隊へのアンケート調査より平均224.7kgであった。ヤク1頭あたり積載制限は、60kgである。このことから、運搬に使用されるロバは約4頭である。ヤクも荷下ろしの際ベースキャンプに滞在する。1日あたり排出される糞尿量は3.6kg/頭であることから、運搬に使用されるヤク数を乗じると、14.4kgである。登山者一人分の荷物を運び上げると間接的に14.4kgの糞尿がヤクから排出される。以上のことから、登山者一人あたりの環境負荷量は324.4kgと推計された。

（2）各時期の環境負荷量の推定

高分解能衛星画像を用いた画像解析より得られた推定ベースキャンプ滞在者数を用いて各時期の環境負荷量の推定を行った（図12）。2007年の推定ベースキャンプ滞在者数は359人であった。得られている登山者一人あたり的大便、尿、生活雑排水及びヤクの糞尿量の原単位に対して、ベースキャンプ滞在者数を乗じると、大便は年間1,974.5kg、尿は年間21,540ℓ（1ℓを1kgとして重量値換算すると21.5t）、生活雑排水は89,750ℓ（89.8t）となり、ヤクから排出される糞尿量は5,169kg（5.2t）の値が得られる。したがって、2007年に排出された環境負荷量の総量は、重量値換算で116,459.6kg（116.5t）と推計された。

2009年の推定ベースキャンプ滞在者数は412人であった。同様に得られている登山者一人あたり的大便、尿、生活雑排水及びヤクの糞尿量の原単位に対して、ベースキャンプ滞在者数を乗じると、大便

は年間 2,266.0kg、尿は年間 24,720ℓ (24.7t)、生活雑排水は 103,000ℓ (103.0t) となり、ヤクから排出される糞尿量は 5,932.8kg (5.9t) の値が得られる。したがって、2009 年に排出された環境負荷量の総量は、重量値換算で 133,652.8kg (133.7t) と推計された。

2013 年の推定ベースキャンプ滞在者数は 465 人であった。同様に得られている登山者一人あたりの大便、尿、生活雑排水及びヤクの糞尿量の原単位に対して、ベースキャンプ滞在者数を乗じると、大便は年間 2,557.5kg、尿は年間 27,900ℓ (27.9t)、生活雑排水は 116,250ℓ (116.3t) となり、ヤクから排出される糞尿量は 6,696kg (6.7t) の値が得られる。したがって、2013 年に排出された環境負荷量の総量は、重量値換算で 150,846.0kg (150.8t) と推計された。

2016 年の推定ベースキャンプ滞在者数は 564 人であった。同様に得られている登山者一人あたりの大便、尿、生活雑排水及びヤクの糞尿量の原単位に対して、ベースキャンプ滞在者数を乗じると、大便は年間 3,102kg、尿は年間 33,840ℓ (33.8t)、生活雑排水は 141,000ℓ (141.0t) となり、ヤクから排出される糞尿量は 8,121.6kg (8.1t) の値が得られる。したがって、2016 年に排出された環境負荷量の総量は、重量値換算で 182,961.6kg (183.0t) と推計された。

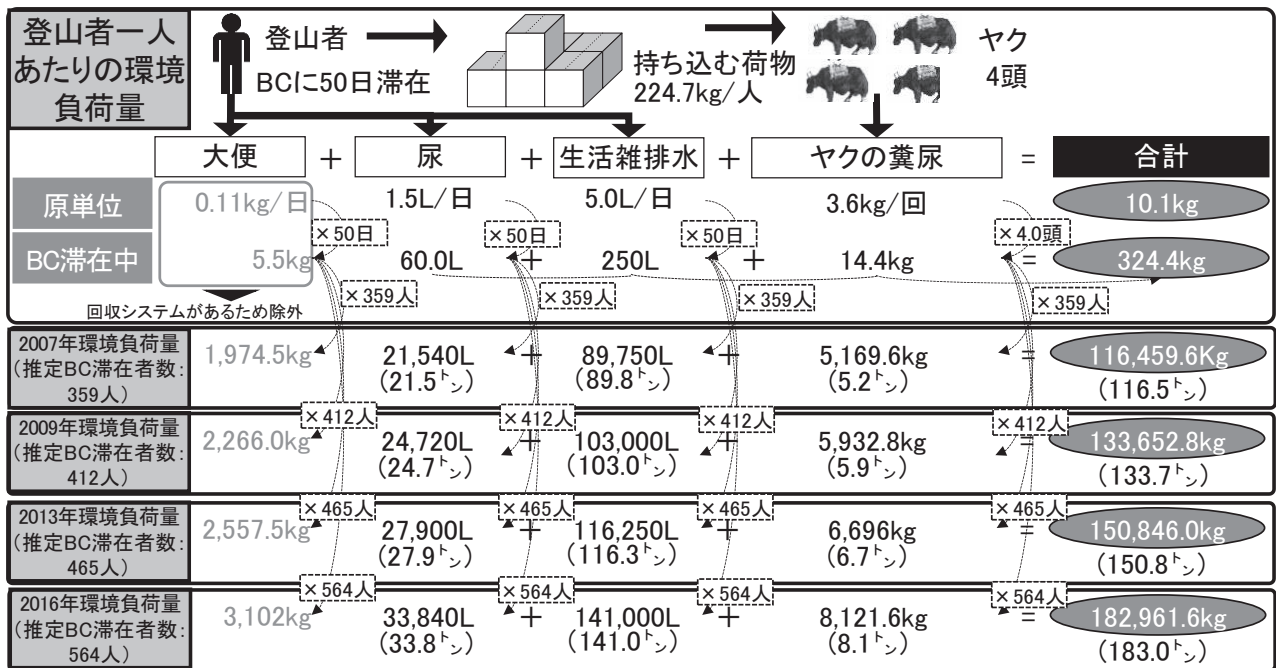


図 12 エベレスト・ベースキャンプにおける推定ベースキャンプ滞在者数を用いた 4 時期の環境負荷量の算出

以上のことから、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構築に向けた、基礎的な解析手法の確立が行えた。

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

災害ポテンシャル評価に資する文献データの収集を行った。当該地における気象データのうち、年平均(平年値)気温及び降水量のデータの整備状況について探索を行った。ClimatView のサイトにて気温及び降水量の月平均及び平年値が公開されている(図 13)。ClimatView とは世界各国から毎月送られてくる「地上月気候値気象通報 (CLIMAT 報)」により得られた値で、世界気象機関 (WMO) に加盟して

いる各国の気象機関が、日々の気象観測データから計算して相互に交換しているデータである。ここでの平年値は、1981～2010年の30年間の観測値に基づく値である。

ClimatView におけるネパールの平年値は、首都カトマンズとダンクタ（ネパール東部）の2箇所のデータを公開している。カトマンズのデータを見ると、降水量は5月から増加し7月をピークとし、9月まで降水量は多い。一方10月から翌年4月までは降水量は少ない。これはモンスーンの影響を受けるため雨季と乾季の二時期が出現する。累積降水量は1,476.2mmである。気温をみると最高値は7月の24.3℃、最低値は1月の10.9℃である。もう一つの観測地点であるダンクタも同様な傾向である。



図 13 ClimatView のサイト (<https://www.data.jma.go.jp/gmd/cpd/monitor/climatview/frame.php>)

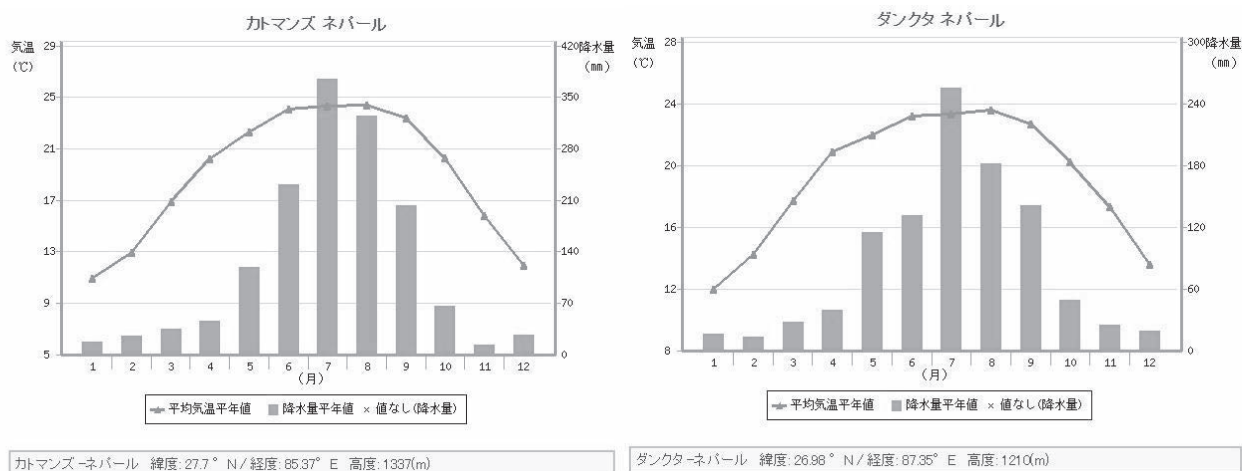


図 14 カトマンズの平均気温及び降水量の平年値

図 15 ダンタクの平均気温及び降水量の平年値

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

今年度の調査結果をふまえ、現時点での実用的な成果を以下に列記する。

1) 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

- ・高分解能衛星画像の収集及び地物の自動判読及び画像解析による登山利用実態の把握
- ・遠隔による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）

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年度に予定していた現地調査を実施し、図16に示した通り、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。

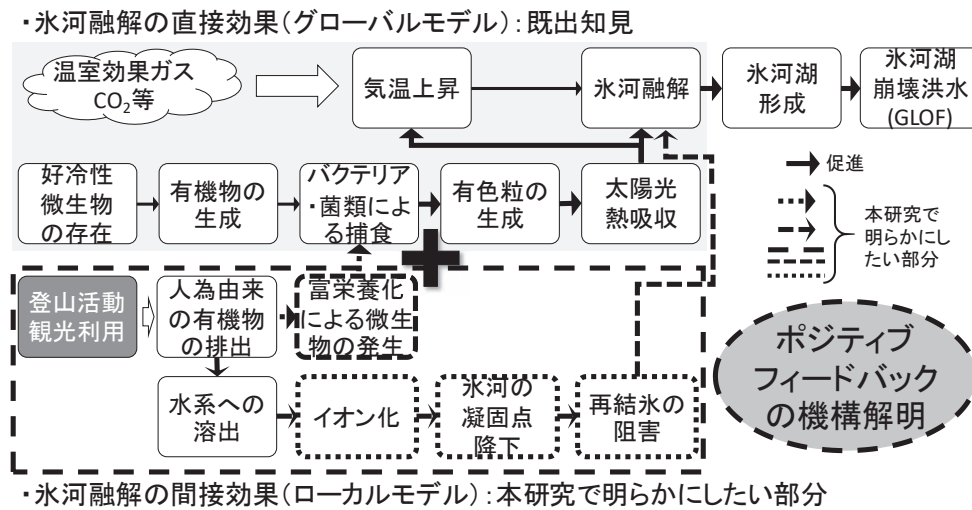


図16 水環境及び微生物の挙動の応答面からの氷河の融解現象の解明

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

2020年度に予定していた現地調査を実施し、図17に示したとおり、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。

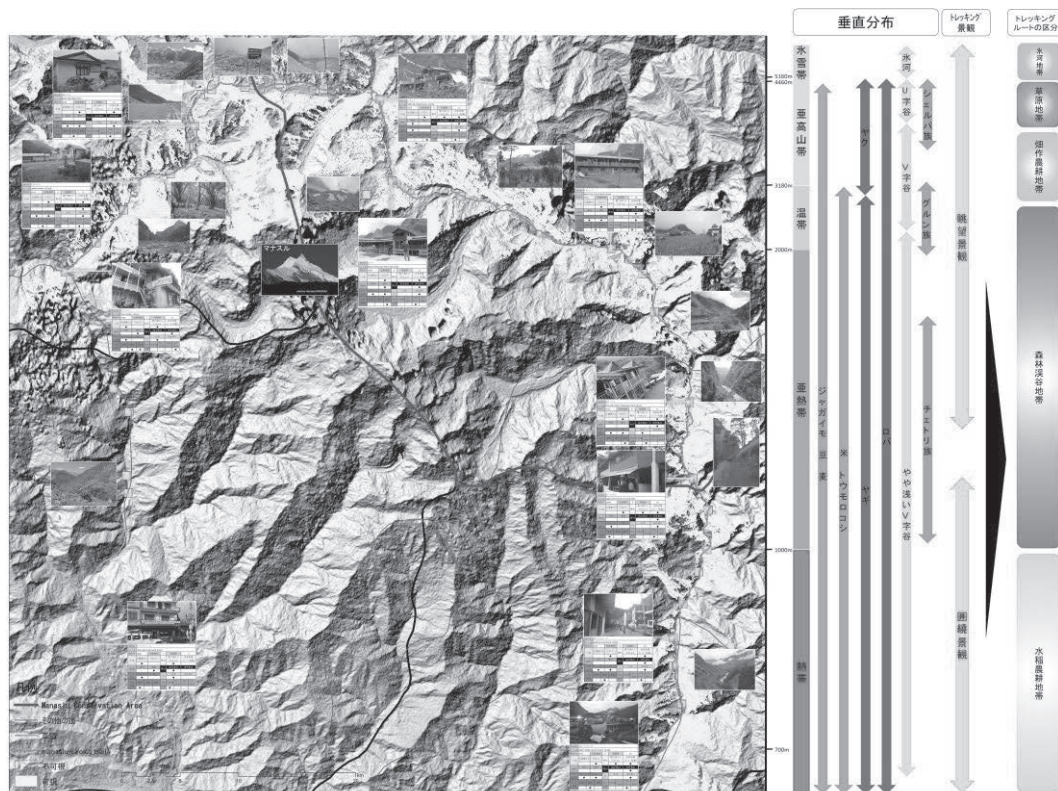


図17 マナスル保全地域の景観資源と垂直分布別に見る景観特性

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年度に予定していた現地調査を実施し、図18に示した通り、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。

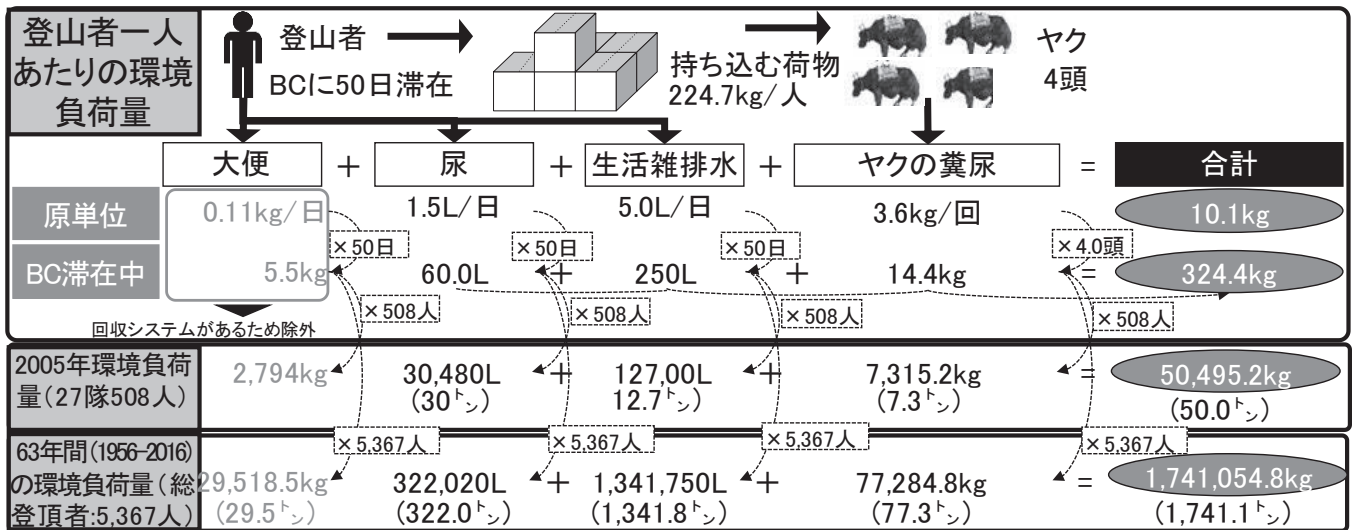


図18 ヒマラヤ登山における環境負荷量の算出(エベレスト登山)

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。

10. 公表した成果一覧

なし

2020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 研究成果概要

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	2,980,000

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・准教授	GI 戦略・計画
	栗野 隆	地域環境科学部 造園科学科・准教授	GI 計画
	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 の測定
	金澤 弓子	地域環境科学部 造園科学科・准教授	GI 戦略
	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 戦略・計画
	雷 芸	北京林業大学園林学部・副教授	GI 戦略・計画
	李 玉紅	上海交通大学風景園林系・副教授	GI 戦略・計画
	Tae-Yeol Jung	Department of Landscape Architecture College of Agriculture and life Science, Kyungpook National University (慶北大学)・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
	Dirk Junker	オスナブリュック応用科学大学・教授	GI 戦略・計画

3. 研究期間

2020年6月10日～2022年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

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年に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適応策や防減災などに資するグリーンインフラ、社会的共通基盤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グリーンインフラ実装のあり方が必要とされている。

5. 研究目的

気候変動時代に適応したグリーンインフラ（Green Infrastructure, 以下 GI）の実態と枠組みをアジア・モンスーン地域に立地する4つの協定校を中心に協働で探求した。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、社会的共通基盤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実装のあり方が必要とされてきた。本研究ではアジア4都市（横浜、北京、上海、マニラ）を対象に(1)GI戦略・計画の把握、(2)GI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)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GI実装に向けた枠組みを明らかにすることを目的とした。

6. 研究（実験）方法

6.1 研究の全体像および定義

研究初年度に明らかにしたGIに関する共通の定義、目標の設定などを連携大学間で再確認した。必要に応じて文献調査等で補足し、オンラインを活用して情報共有・意見交換を行った。

6.2 研究の3つの柱

(1) グリーンインフラ戦略・計画の実態把握

基礎自治体レベルで展開されるGI戦略や計画の実態把握および概要整理を行った。初年度では横浜市を中心とした実態把握を行なったが、2年目は他3都市も含めた実態把握を行った。GI戦略・計画の進捗は各都市で差があるため、大きな特徴や概要を5都市で比較できるように整理し、アジア・モンスーン地域におけるグリーンインフラ戦略・計画に必要な事項を明らかにした。研究手法としては文献調査及びヒアリングを中心とした。

(2) グリーンインフラの定量化（GISを用いた土地被覆の測定、空撮画像によるNDVI値の算出等）

対象4都市の中で選定した対象域におけるGIの測定を行った。初年度に実施した横浜市大岡川中上流域の街区スケールのGI測定を参考に、各国において敷地スケールのGI事例調査を進めた。横浜市においては、大岡川流域内で空撮画像および地上撮影画像によるNDVI値の算出や三溪園における水系構造の把握なども継続で実施し、複数のGI測定手法を検討した。

(3) 生物多様性の確保と水害防備技術を目的としたグリーンインフラの技術的展開

国際的なグリーンインフラの主要目的である生物多様性の確保と水循環再生の2つの視点に基づき、①象4都市内で選定した都市とエリアにおいて緑地の植生構造の特徴を調べると共に、②伝統的な植物・土木技術を生かした水害防備技術やたたき技術について検証した。

7. 研究成果

2021年8月9日に協定校2大学他の参加のもと、中間発表会を実施した。現時点で報告できる成果は以下の通りである。

7.1 GI 研究における共通の定義・既往研究のレビュー

日本におけるグリーンインフラ（GI）の定義、先行研究におけるGIの取り扱いについて整理を行った。2010年代からGIの概念が導入され、その定義は未だ一定ではないが、おおよそ、米国環境保護局の示す都市機能向上と雨水管理システムの視点、欧州委員会の示す生態系やエコロジカルネットワーク再生の視点から位置づけられていた。日本の研究論文としては、ランドスケープ、都市計画、土木などの分野における、米国型の視点での事例報告が多く見られ、欧州型の生態学の分野の報告では特集記事が大部分を占めていた。

7.2 GI 戦略・計画の実態

(1) 日本・横浜市における実態

①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ていた。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察される。②横浜市におけるGI政策関連の実態：具体的な施策は「水循環再生」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。なお生物多様性の確保の観点から展開された施策アプローチは確認できなかった。

(2) 中国及びフィリピンにおける実態

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。中国においては、中国協定校（上海交通大学と北京林業大学）との共同研究により、中国におけるGIの定義と変遷を整理した。中国のGIは、アメリカのGIの定義を受け継ぎ、2009年の第46回世界IFLA大会を機に、中国国内で議論されはじめ、影響が広がった。緑地の拠点となる部分のみならず、複数の緑地間の連結性とネットワークを重視し、発展途上国の都市発展、経済成長と環境保全を実現するための手段として使われてきた。なお、中国のGI関連の文献調査により、中国GIの代表事例の位置とスケール、GI研究の4手法や論文数の変遷を把握した。このことにより、次年度の比較事例の対象が準備できた。

(3) GIの測定（GISを用いた土地利用状況の把握等）

①マニラ市におけるGIの測定

マニラ市（フィリピン）の「緑地」の面積を、GISを用いて算出した。その結果、「緑地」に関わる情報が散逸していることがわかり、最初のステップとして、地図情報による「植物のある場」の面積を求めることから始めた。その面積のマニラ市に占める割合は、東京23区の「緑地」とほぼ同じであることが明らかになった。

②横浜市大岡川流域におけるGIの測定

大岡川中上流域において、土地利用や地質、内水・外水ハザードマップ等の予備調査を行った後、小流域の設定、流出係数に着目した土地被覆分類に基づく土地利用の把握、導入するGI要素の検討及びGI導入シナリオ作成による雨水流出量の分析を行った（田中他 a,b）。現在分析対象の街区を絞り込んで土地被覆と雨水流出量の分析をさらに進めている。

③三溪園における土地利用構成と水系構造の解明

三溪園をGIとして評価するために、現存する5つの池水面に関わる水源・排水など、水系構造、池の貯水力、三溪園の土地利用構成を明らかにした。今年度後半では池の貯水力の求積、土地利用構成の視覚化を行う予定である。

④称名寺庭園における 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にも取り組んだ。対象地は称名寺（横浜市金沢区）の阿字ヶ池を中心とした浄土庭園である。称名寺の周辺には金沢三山を主体とした豊富な緑地があり、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。調査の際、UAVには近赤外カメラ（Yubaflex：Bizworks社製）を搭載し、近赤外画像を取得した。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（舘川，國井 2021）。今年度は三溪園におけるUAVを用いたGI測定を行う予定である。

(3) 植生構造の類型化

大岡川流域における樹木の分布と水条件の関係／樹木への冠水、浸水の影響をみた。また街路樹のサクラ類の適切な植栽環境の調査，及び圃場ポット実験による異なる土壌物理性(滞水区、排水区)が生育に及ぼす影響について調べた（Ying et al.2021）。

(4) オスナブリュック応用科学大学とのコロキアムの実施

2021年1月14日にドイツ・オスナブリュック応用科学大学とのコロキアムを実施し、GI研究に関する意見・情報交換を行った。これは学部間協定校の締結に至った。

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（1年目）において得られた研究成果は、現時点では他研究への活用などはない。しかしながら、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。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

GI研究における共通の定義に関しては、GI研究の視点、手法、キーワードなどを整理し他地域との比較となる基礎材料が整理された。今後はスケールごとに他地域と比較を行いアジア・モンスーン型GIの地域間の課題を解明する必要がある。

GI戦略・計画の実態把握においては、日本・中国・フィリピンでのGIの位置付けや認識の差が著しい。今後は対象都市に共通する課題等を明らかにしていく。

GI測定に関しては、都市スケール、街区スケール、敷地スケールでのGI測定を進めたが、今後は対象都市間でスケールの整合を取りつつ、いくつかのスケールに絞り込んでGI測定の比較を行う必要がある。植生構造に関しては、研究全般において、当初目論んでいた海外渡航や調査の実施が適わず、主にオンラインを中心とした協働となった。今後は状況に合わせて研究のフレームを適応させつつ、研究の内容を深化させる。

10. 公表した成果一覧

著書

1) 福岡孝則(2020):実践版！グリーンインフラ，日経BP社

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>

その他 (学会発表・関連研究・書籍など)

- 1) 宿野亮・國井洋一 (2020) : 写真測量による称名寺庭園の3次元モデリング化について, 2020年度日本造園学会関東支部大会梗概集/事例・研究報告集(38), p.77
- 2) 田中亮平・福岡孝則(2020a):横浜市大岡川中流域における土地利用と雨水浸透機能を軸にしたグリーンインフラ 形成可能性に関する研究, 2020年度日本造園学会関東支部大会梗概集/事例・研究報告集(38), p.80
- 3) 田中亮平・福岡孝則(2020b):横浜市大岡川中流域における土地利用と雨水浸透機能を軸にしたグリーンインフラ 形成可能性に関する研究, グリーンインフラ・ネットワーク・ジャパン 全国大会 (ポスター発表)
- 4) Ying Jin, Yumiko Kanazawa, Kojiro Suzuki (2021) Soil physical condition for growth of *Cerasus campanulate*. ISA 2021 International Virtual Conference, Tuesday 14 December (ポスター発表予定)
- 5) 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

2020年度 東京農業大学 ゲノム育種プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 西尾 善太

1. 研究課題名および予算額

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

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	西尾 善太	農学部 農学科・教授	研究総括・高温耐性評価・DNA マーカー開発
研究分担者	谷口 亜樹子	農学部 デザイン農学科・教授	全粒粉パンの匂い成分分析
	野口 治子	農学部 デザイン農学科・准教授	全粒粉パンの匂い成分分析
	風見 真千子	農学部 デザイン農学科・助教	全粒粉パンの匂い成分分析
	河瀬 眞琴	農学部 農学科・教授	穀類の収集と栽培管理
	丹羽 克昌	農学部 農学科・准教授	穀類の収集と栽培管理
	吉田 実花	農学部 農学科・助教	全粒粉パンの匂い成分分析
	大楠 秀樹 (研究協力者)	(株)ニッポン 中央研究所・所長	全粒粉の調整および全粒粉パンの評価

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（2年目）

4. 研究の背景（当初）

最近の日本では生活習慣病（がん、高血圧、心疾患、糖尿病等）の医療費に占める割合は3割を超え、死因に占める割合は6割を超えており（厚生労働白書 2014）、生活習慣病は日本人の健康長寿の最大の阻害要因となっている。一方、全粒穀物を食べると心臓病や糖尿病等の生活習慣病のリスクが低下することが分かっており、ハーバード公衆衛生大学院が1986～2010年に米国で行った大規模調査では、全粒穀物を1日28g以上食べる人の死亡率は全粒穀物をほとんど食べない人より5%低かった。我が国のカロリーベースの食料自給率は40%前後と主要先進国の中で最低水準にあるが、第二の主食の小麦はパンや麺類、パスタ等の需要が堅調で、米との相対摂取量は増加している。小麦の外皮のふすまは、食物繊維が多く含まれ整腸作用があるのに加え、ビタミンB、ナイアシンなどのビタミン類、鉄、銅、マグネシウム、カリウム、リン、亜鉛などのミネラルが豊富に含まれる。また小麦胚芽はタンパク質、脂

質、ビタミン、ミネラル、食物繊維が豊富で栄養価が高い。しかし、全粒粉パンは健康に良いという認識が広がっているが、穀物特有の臭みがあるため万人受けするとは言い難く、市場が伸び悩んでいる。そこで本研究では、一部の穀類が持つとされる、特徴的で魅力的なパンの風味や香気に着目し、日本で過去に栽培されたり、育種に利用されたりした品種をほぼ網羅しているコアコレクションを中心に、大麦やライ麦等、多様な穀類の遺伝資源から魅力的な風味・香りを持つ品種の探索・評価を行う。続いて健康機能性と消費者の嗜好性を併せ持つ可能性のある全粒粉を用いた高付加価値の食品開発を行う。本研究の遂行により、我が国の食品産業および農業の活性化に大きく貢献することが大いに期待できる。

5. 研究目的

本研究では、まず全粒粉パンの風味・香気が優れる穀類遺伝資源を抽出し、その特徴を最大限活かした高付加価値食品の開発につなげるための最適な全粒粉の製粉条件を明らかにする。さらに、高付加価値の全粒粉パンの商品開発に重要な匂い成分や風味の特徴を明らかにするとともに、それらの優れた特徴をさらに強化することに挑戦し、本研究の目標である高付加価値の国産食品開発を達成する。具体的な研究の全体計画は以下のとおりである。

- 1) 東京農業大学農学部試験圃場（神奈川県厚木市）等において、日本の小麦コアコレクション（9品種）や大麦、ライ麦のような小麦以外の穀類を栽培、脱穀してすべてのサンプルを得る。収穫時の降雨による穂発芽と穀粒の変質を防ぐため、雨除けハウスの栽培試験区を設ける。
- 2) 小麦やその他の穀類サンプルについてテストミルを用いて複数の条件下で全粒粉を調製し、最適な製粉条件を検討する。本研究課題に対して全面的な支援を申し出て頂いている厚木市内の日本製粉株式会社フードリサーチセンターの協力により、最適な全粒粉の調製法や製パン条件を検討する。
- 3) 工場製粉にて得られた超強力小麦「ゆめちから」のロング粉（タンパク含量約13%）に対して、それぞれのサンプルの全粒粉を適宜ブレンドし、製パン条件のプログラム設定が可能な最新の高機能型のホームベーカリーにより、「ゆめちから」小麦粉＋全粒粉のブレンドによる製パン試験を行う。
- 4) 得られた全粒粉パンのサンプルについて、それぞれの風味・香気を官能評価により評価する。対照の北米産の輸入パン用小麦との比較で風味・香気に有意な差異がみられた品種を抽出したのち、それらの全粒粉パンのGC/MS匂い分析を行い、特徴の原因となっている風味・香味成分を明らかにする。
- 5) 小麦コアコレクションの大量のゲノム情報（SNPs）を用いて、特徴のある風味・香味成分を示す品種に共通する遺伝的な特徴を明らかにし、優良品種と交配した材料のゲノム選抜育種を試みる。
- 6) 既に国産穀類を用いた高付加価値商品を開発している地域を参考に、優れた風味・香気を活用した全粒粉パン等の高付加価値商品の開発を試みる。

これまでに明治時代以降の我が国の在来品種から近年の育成品種まで、各年代の主要な品種を中心に96品種から構成されるコムギコアコレクションを入手して全粒粉の香りについて官能検査と分析を行った。その結果、昭和初期に育成されたパン用硬質品種の「鴻巣25号」の全粒粉パンは、評価の優れたカナダ産の輸入小麦に匹敵する高い嗜好性を示すことを明らかにした。しかし、「鴻巣25号」およびいくつかの国産品種は、嗜好性の高い風味を示し、潜在的に高い付加価値をもつ可能性を示したものの、その科学的な解析は風味の特徴を最大限引き出すために適した製品や製法等は未解明である。そこで2020年度以降は、選抜したコレクションを増殖して実需者による試験製粉および全粒粉パンの試作を行い、様々な穀類の全粒粉の風味・香気を解析することにより、国産の穀類が潜在的に持つと考えられる魅力的な風味や香気を網羅的に探索し、さらにゲノム解析の手法を応用することにより、高機能性が

嗜好性を併せ持つ国産食品の開発を目標とする。

6. 研究（実験）方法

1) 全粒粉パンの香味特性の評価

i 優れた全粒粉パンの香味特性をもつ国産品種の選抜

東京農業大学農学部農学科遺伝育種学研究室で維持管理されている農研機構遺伝資源センタージェーンバンクの日本のコムギコアコレクションのうち、伊藤卒論(2020)より選抜した「鴻巣 25 号」、「北栄」、「ユキチャボ」、「広島シプレー」、「アブクマワセ」と、国産小麦の主要品種である「ゆめちから」、「みのりのちから」、「ゆめかおり」の計 10 品種について 2020 年に厚木キャンパスで収穫したサンプルを用いた。対照区として、カナダ産輸入小麦銘柄「1CW」を用いた。(表 1)

ii 株式会社ニッポンによる全粒粉製パン試験および官能評価

「鴻巣 25 号」、「北栄」、「ユキチャボ」、「広島シプレー」、「アブクマワセ」に加えて、国産小麦の主要品種である「ゆめちから」、「みのりのちから」、「ゆめかおり」を用いた。対照区として、カナダ産輸入パン用小麦「1CW」を用いた。

iii 海外のムギ類遺伝資源および各種穀類の全粒粉パンの香味特性の評価

2020 年に厚木キャンパスで収穫したパキスタン由来の *Triticum aestivum* (コムギ) 2 品種 (4289、4303)、*Secale cereale* (ライムギ) 2 品種 (4283、4313)、*Triticale* (ライコムギ) 1 品種 (4295) を用いた。各種の穀類として、エンバク (商品名「プレミアムオーツ麦」(カナダ産)、株式会社 iHoldings)、イネ玄米 (商品名「黒米」(熊本産)、九州の大自然 しらき)、オオムギ (商品名「精白麦」(栃木県産) 株式会社 波里)、スペルトコムギ (商品名「有機スペルト小麦」(ドイツ産)、鎌倉てとら合同会社)、アマランサス (商品名「アマランサス業務用」ペルー産、株式会社 波里)、オオムギ (商品名「もち麦」(熊本県産)、株式会社 コダマ)、ハトムギ (商品名「挽割はと麦」(富山県産) 株式会社 コダマ)、キヌア (商品名「キヌア業務用」ペルー産、株式会社 波里)、イネ玄米 (商品名「GABA の恵み」(国産うるち米)、マルキン有限会社)、イネ玄米 (「発芽赤米」(熊本県産)、株式会社 コダマ)、ライムギ (商品名「有機ライ麦丸粒」(ドイツ産)、株式会社 ラグナ)、オオムギ (商品名「スーパー大麦バーリーマックス」(オーストラリア産)、株式会社 そうまファクトリー)、十五穀米 (国産、株式会社 波里)、アワ (商品名「うるちあわ」(中国産)、株式会社 天津屋商店)、ヒエ (商品名「ひえ」(岩手県産)、株式会社 エスパワー)、キビ (商品名「もちきび」(長崎県産)、株式会社 コダマ)、アワ (商品名「もちあわ」(長崎県産)、株式会社 コダマ)、キビ (商品名「たかきび」(岩手県産)、株式会社 コダマ)、イネ玄米 (商品名「黒米」(秋田県産)、株式会社 波里)、オオムギ (商品名「紫もち麦 (南部吟右衛門)」(国産)、ジェントルマン合同会社)、イネ玄米 (商品名「黒米もち性」(国産)、株式会社 雑穀米本舗)、オオムギ (商品名「丸麦イチバンボシ」(栃木県産)、アオヤギ製粉)、ライムギ (商品名「ライ麦粉 中挽き」(ドイツ産)、株式会社 パイオニア企画)、ライムギ (商品名「加工ライ麦粒」(ドイツ産)、株式会社 富澤商店)、コムギ (商品名「国産・玄小麦」(株式会社 自然健康社)、オオムギ (商品名「讃岐もち麦ダイシモチ」(香川県産)、有限会社 ブルーマン)、対照区として、カナダ産輸入パン用小麦「1CW」を用いた(表 2)。各種穀類のサンプル数が多いため、評価は二段階 (第一段階：坂本による評価、第二段階：研究室の学生および教員による評価) に分けて行った。

2) 全粒粉の栄養成分の評価

(一社) 日本食品分析センターの栄養成分表示セット (食物繊維：酵素-重量法) により栄養成分 (水分、たんぱく質、脂質、灰分、炭水化物、糖質、食物繊維、エネルギー、食塩相当量(ナトリウム)) を

分析した。

表 1 試験 i, ii に用いたコムギ品種およびライムギとライコムギ

	JWC+国産主要品種	パキスタン産
調査対象	鴻巣25号	<i>S. cereale</i> 2品種
	北栄	<i>T. aestivum</i> 2品種
	ユキチャボ	<i>Triticare</i> 1品種
	広島シプレー	
	アブクマワセ	
	江島神力	
	ゆめちから	
	みのりのちから	
きたほなみ		
対照	1CW	

表 2 試験 iii に用いた全粒穀類

燕麦 (オーツ麦)	大麦(ダイシモチ)	丸麦(大麦)	ライフレーク(押し麦)
黒米(熊本産)	はと麦	アマランサス	国産玄小麦
黒米(秋田産)	有機スペルト小麦丸粒	キヌア	<i>S. cereale</i> 2品種
黒米(もち性)	十五穀米	玄米 (GABAの恵)	<i>T. aestivum</i> 2品種
大麦(南部吟右衛門)	うるちあわ	発芽赤米	<i>Triticare</i> 1品種
大麦(栃木産もち麦)	もちあわ	有機ライ麦丸粒	
大麦 (熊本産もち麦)	ひえ	スーパー大麦 バーリーマックス	
もちきび	たかきび	ライ麦粉	

※網掛けは第一選抜で選ばれた穀類

全粒粉製パン試験

製パン試験の配合は、超強力小麦品種「ゆめちから」を100%原料とした工場製粉によるコムギ粉「ゆめちから B」(株式会社ニッポン)を70gに、フードミル(イワタニ ミルサー IFM-800DG)で30秒間粉碎したコムギコアコレクションの全粒粉30gを配合し、小麦粉と全粒粉の合計が100g(岩渕卒論2019)になるように調製した。副原料としてグラニュー糖(日本甜菜製糖株式会社)5g、食塩(公益財団法人塩事業センター)2g、ショートニング(株式会社ダーボン・オーガニック・ジャパン)5g、ドライイースト(株式会社パイオニア企画)1gと、蒸留水80ml(ムギ類)または75ml(ムギ類を除く穀類)を加えた。ムギ類を除く穀類は吸水率が低いため水分量を5ml減少した(石井ら2018)。秤量の誤差は±0.01g以内とした。

(i)の試験は、ホームベーカリー(パナソニック株式会社 SD-MDX101)の食パンコース(メニュー番号2)を用いて全粒粉パンを焼成した。

(ii)の試験は株式会社ニッポンにて、(i)と同様の小麦粉と全粒粉の配合で製パンおよび評価を行った。

(iii)の試験は、以下の手順に従って製パン試験を行った。

1. 上記の材料と配合でホームベーカリー(パナソニック株式会社 SD-MDX101)の食パン生地コース(メニュー番号d1)を用いて生地の混捏、一次発酵までの工程を行った。
2. ホームベーカリーから生地を取り出し、1ローフを半量になるよう計量すし(誤差±1.50g以内とした)ガス抜き後、綴じ目を下にして20分ベンチタイムをとった。
3. ガス抜きと成型の際、パン生地にかかる圧力を一定にするため、厚さ4mmのレールと大理石製の5kgのローラーを使用し、各工程でローラーは2往復した。楕円形に伸ばした生地の短径を三等分するように、左端から順に織り込んだ。
4. 3の生地を端からまるめ、綴じ目を下にして2個ずつパウンドケーキ型(富士ホーロー ベイクウェア フッ素 ミニパウンドケーキ型 SS 57274 135mm×68mm×45mm)に入れ、オーブン(シャープ株式会社 AX-XJ600-R)を35°Cに設定してホイロに50分入れた後、予め180°Cに予熱した同一機種のおーブンで焼成した。

焼成後の全粒粉パンの保存条件

全粒粉パンの焼成後、匂い成分の蒸発を最小限に抑えるため、ホームベーカリーからパンケースを取り出した後、直ちにアルミホイルに品種名等を書いた付箋を貼ってパンケースに隙間なくかぶせた。そのまま室温で1時間保存して冷ました後、パンをパンケースから取り出し、チャック付きのビニール袋(生産日本社 ユニパック B-4)で二重にして密閉保存した。パン以外の匂いの影響を防ぐため、油性マーカー等は使用せず、菓包紙に鉛筆で品種名または試験区番号を明記してビニール袋に同封した。

全粒粉パンの香味特性の官能評価

(i)の試験では、焼成直後、10分後、24時間後に匂い嗅ぎ試験を行った。評価は、対照の「1CW」と比べてにおいが、弱い…1、やや弱い…2、同じくらい…3、やや強い…4、強い…5の5段階とした。同時に匂いの特徴付け(例:ふすま臭、さびっぽい、甘い匂い等)を行った。

(ii)の試験では(株)ニッポン中央研究所にて製パン試験を行った後、7名のパネラーにより官能評

価を行った。株式会社ニッポンにおいて製パン試験を行ったサンプルは、東京農業大学においても対照区（1CW）の総合評価を8点として総合評価を行った。

(iii) の試験では、第一選抜として合計 31 種の穀類を用いて全粒粉パンの製パン試験を行い、自身による官能評価を行った結果、19 種類の穀類を選抜した(表 2)。選抜した 19 種類について植物育種学研究室の教員と室員による全粒粉パンの香味特性の官能試験を実施した。調査対象の穀類が多いため、試験は2回に分けて行った。一回目は36名(男女比=28:8)、二回目は37名(26:11)をパネラーとした。評価は、口当たり、味、香りの感想に加え、総合的評価として、1…対照よりおいしくなかった、2…同じくらいおいしかった、3…対照よりおいしかった、の3段階の評価を行った。また、試験では対照区（1CW）のみをパネラーに周知し、その他の穀類は内容を伏せて行った。

7. 研究成果

(i) の試験に先行して (ii) の試験を行ったため、サンプル欠測となった「北栄」「ユキチャボ」「アブクマワセ」「広島シプレー」以外の (i) の結果を表 3 に示した。パキスタン由来のムギ類は、4289(*T. aestivum*、試験区番号 V-24)と 4295(*Triticale*、試験区番号 V-25)を除く3品種において、比較的強いふすま臭とさびのようなおいを感じた。

表 3 (i) の試験の全粒粉パンの香気試験結果

No	対照	2020 厚木		においの評価
		最初	10分	
	1CW	3	3	
1	鴻巣25号	3	2	ほんのり甘い、パンのにおい 1CWより酸味弱い
2	4283	4	2	すっぱい、ほんのり甘い 若干さび、ふすま臭
3	4289	3	3	フルーティー、若干さび ナッツ、5つのなかで一番軽い
4	4295	3	4	(焼き立てがツンとする、すっぱい) ローストナッツ、すっぱい、ややさわやか
5	4303	3	3	さび、甘さとすっぱさ やや青臭さ
6	4313	4	4	ふすま臭、すっぱさ、ツンとする 奥のほうで嫌なにおい

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

(ii) の試験結果を表 4、表 5 に示した。(株)ニッポン中央研究所の7名のパネラーによる評価結果を表 4 に示した。現在の国産コムギ主要品種である「ゆめちから」「みのりのちから」「きたほなみ」の全粒粉パンが好ましいとの意見が多く、「広島シプレー」「アブクマワセ」は食感が好ましくないという評価が2名あった。株式会社ニッポンにおいて製パン試験を行った全粒粉パンを自分でも評価した結果

を表 5 に示した。「広島シプレー」「アブクマワセ」「江島神力」では香りに酸味が感じられ、調査対象のなかでは味がやや劣る印象であった。「鴻巣 25 号」は味・香りともに薄い印象で、「ユキチャボ」は最も甘い香りを感じた。以上の結果から総合評価点を行い、現行の国内主要品種に加えて、「鴻巣 25 号」「ユキチャボ」が対照の「1CW」と同じく 8 点という結果になった。

表 5 (株)ニッポン中央研究所において実施した全粒粉パン試験の結果

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
試料名		鴻巣25号	北栄	ユキチャボ	広島シプレー	アブクマワセ	江島神力	ゆめちから	みのりのちから	きたほなみ	1CW
官能評価	外観		パイル荒い	パイル荒い				焼色やや明るい、パイルおとなしい(やや両側)	焼色やや明るい、パイルややおとなしい(やや両側)	焼色やや明るい、パイル荒い	焼色やや明るい、両側パイル
	内相		やや粗い						やや粗い、伸びがある	やや粗い	コントロール
	食感(物性)	やや硬い、口どけ良い	やや硬く、くちや付く	やや硬い、団子、くちや付く	ややドライ、硬く、団子、くちや付く	やや硬く、口どけ悪い	ややドライ、くちや付く	やや硬く、引きが強く、くちや付く	若干硬く、引きが強い	硬く、ややくちや付く	コントロール
	食感(味)	舌み、エグミ	舌み、若干エグミ	若干舌く、やや酸味	やや酸味、若干舌み	酸味、やや風味	やや酸味、やや舌み、若干風味		やや風味強く、やや酸味	酸味	コントロール
	食感(香り)		若干酸味			やや香り	ややフスマ様の匂い		やや香り	やや香り薄い	コントロール

表 4 (株)ニッポン中央研究所において焼成した全粒粉パンを東京農大で評価した官能試験結果

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
試料名		鴻巣25号	北栄	ユキチャボ	広島シプレー	アブクマワセ	江島神力	ゆめちから	みのりのちから	きたほなみ	1CW
官能評価	外観	ボリューム小			ボリューム小		ボリューム小	焼色やや明るい	焼色やや明るい	焼色やや明るい	焼色やや明るい
	内相							やや色濃い	やや硬い		コントロール
	食感(物性)	食べやすい	3より食べやすい	軽い	やや硬い、	やや硬い	やや硬い		食べると硬さ感じない	もっちゃり	コントロール
	食感(味)		後味が良くない	甘い	酸味、やや渋み		あまりおいしくない			皮の香ばしさ1CW様	コントロール
	食感(香り)	におい弱い	におい弱い	におい弱い、甘におい	やや酸味、さびっぽい	やや酸味	やや酸味				コントロール
総合評価		8	7	8	7	7	7	8	8	8	8

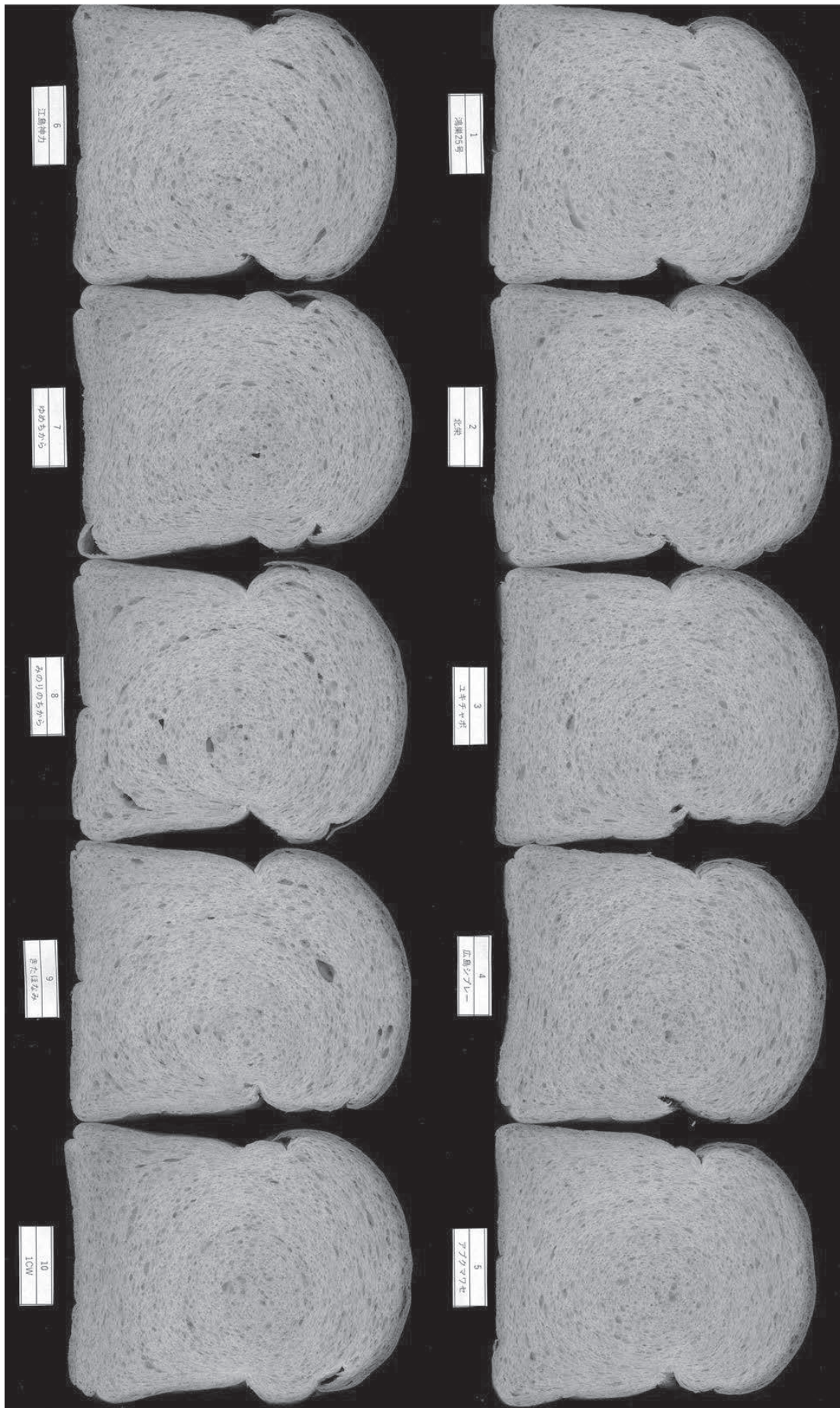


図 1 (株)ニッポン中央研究所にて焼成した全粒粉パンの内相

(iii) の試験では、自分による第一選抜として、官能評価を行い、香味特性の優れる 19 種類を選抜した(表 2)。第一次選抜の製パン試験を行った際には、ムギ類を除く穀類の水分量をムギ類と同様に加水量 80ml で製パンしたものは、対照の「1CW」の生地と比べて、加水過多によるグルテン膜の形成が不十分であると判断し、ムギ類を除く穀類については水分量を 75ml に変更した。選抜した穀類について、第二選抜として当研究室の室員に対して行った全粒粉パンの官能試験の結果、全粒粉パンの総合評価点が 1.8 以上の高評価を得た穀類を 9 種類選抜した。全粒粉パンの総合評価点が、1.8 を下回る評価を得た穀類は、口当たり、味、香り等の評価についてもネガティブな意見が多く見られた。第二次選抜で高い評価を得た全粒粉パンの穀類の総合評価点および、各評価項目において指摘人数の多かった評価を抜粋した(表 6)。イネ玄米(商品名「GABA の恵み」(国産うるち米)、オオムギ(商品名「讃岐もち麦ダイシモチ」(香川県産)、有限会社ブルーマン)が総合評価平均でそれぞれ 2.05 および 2.00 の高い評価を得た。

表 6 第二次選抜で高い評価を得た穀類の全粒粉パン

穀物	1CW	GABAの恵	ダイジモチ	もちきび	V-25(ライコムギ)	発芽赤米	V-24(コムギ)	玄小麦	丸麦	うるちあわ
評価平均	2	2.05	2	1.94	1.94	1.94	1.91	1.91	1.82	1.82
口当たり	しっとり もちもち 柔らかい、ふんわり	弾力がある なめらかな舌触り ふんわり 市販の食パンみた	弾力がある もちもち 堅い	もちもち やわらかい 堅い 団子状	堅い 皮が堅い 弾力がある	もちもち やわらかい 堅い	ふわふわ もちもち 弾力がある	堅い しっとり 弾力がある もちもち	堅い パサつく くちやつく やわらかい	堅い くちやつく 粒残りのざらつき が不快
味	甘い	甘い 少し酸味がある 味が薄い 市販の食パンみた	酸っぱい 甘い 苦い 味がうすい	甘い 苦い 後味にクセがある	苦い 甘い 酸っぱい おいしい	甘い やや苦い かすかに渋み	甘い 苦い 渋い 全粒粉感	甘い おいしい	甘い やや苦い やや渋い	やや甘い おいしい やや苦い
香り	パンのいいにおい 少し甘い 香ばしい	甘いパンのにおい においが弱いまた はしない	においが弱いまた はしない パンのいいにおい	独特ですこし不快 なにおい 甘い	パンの甘いにおい においが強い ふすま臭 対照に似てる	パンのにおい においが弱い	甘い ふすま臭 においが弱い	パンのいいにおい 全粒粉臭	パンの甘いにおい においが弱いまた すこし不快な感じ	パンのいいにおい すこし不快なかお り においが弱いまた

試験 (i) の結果から、日本のコムギコアコレクションから選抜した「鴻巣 25 号」の全粒粉パンは伊藤卒論(2020)の結果と同様に匂いが弱い傾向がみられた。これらの国産コムギ品種は、全粒粉特有の臭みや酸味が苦手な消費者に向けた製品の開発が期待できる。また、試験 (ii) の全粒粉パンの香味特性のうちネガティブな評価だった「広島シプレー」「アブクマワセ」「江島神力」も全粒粉パン自体の酸味を感じにくいサンドイッチ等の調理パンとしての活用が期待できる。各種穀類の中で、比較的高い1.80以上の総合評価を得た穀物 9 種類については、ほぼすべてで甘いという評価がみられた。一方、渋い、酸っぱい、苦いといった、ネガティブにも見える評価も一定数見られた。総合評価の低かった穀類の全粒粉パンの匂いに関しては、まずい、苦い、酸っぱいなどのネガティブな評価が多いものの、味に関する絶対的な評価数が少なかった。以上のことから、全粒粉パンの嗜好性において高評価を得る穀類は、ポジティブな評価のみではなくネガティブに見える評価も含めて、香味に対して、甘い、渋い、噛むほどに甘みが増す、もちもち等の様々な評価が得られやすいといえる。甘いだけでなく、少々の苦味等があった方が味に深みを感じ、好ましく感じる消費者が多いことが示唆される。また、選抜された9種類の穀類において、もちもち、しっとり、弾力があるといった評価が多かったのは、やわらかいパンを好む日本人ならではの嗜好性といえる。本研究では、官能試験のパネラーの大半が大学3,4年生の若年層で男女比率も偏っていたことから、さらに研究を発展させていくには、官能試験のパネラーの人数や年齢層を増加し、男女比率も検討する必要がある。今後、全粒粉パンを幅広い層に普及させるためにも、男女や年齢層の差異による嗜好性への影響等も調査の対象としたい。

栄養成分分析の結果

栄養成分分析の結果を表7に示した。日本食品標準成分表(2015)に掲載されている全粒粉の成分を基準値として緑色で示した。各サンプルの測定値が基準値より低い数値は青色、高い数値は赤色で示した。食塩相当量は、日本食品標準成分表に掲載されていないため比較しなかった。ほとんどのムギ類で、基準値より食物繊維が高い傾向がみられた。また、ムギ類を除くと、食味試験において高評価を得た穀類は、食物繊維含量が低いものが多かった。このため、他の穀類と比べてムギ類の全粒粉は健康機能性に優れると見られ、全粒粉パンの香味が優れた「鴻巣 25 号」や「ユキチャボ」は有望な遺伝資源であると見られた。タンパク質含量に関しては、伊藤卒論(2020)の栄養分析の結果と合わせると、産地や収穫年による差が大きく、本分析結果だけではその傾向をつかむのは困難であった。品種のより正確な傾向を明らかにするためには、今後の分析データの蓄積が必須であると考えられる。この中から、優れた栄養成分をもつ穀類を選抜できれば、現代の消費者需要を満たす健康機能性に富んだ全粒粉パンの開発が期待できる。加えて、これから更なる市場の拡大が予測されるプラントベース食品分野において、日本人の主食としての「パン」という選択肢を広げることに貢献できる。

表7 各種穀類の栄養成分分析結果（日本食品分析センター）

No.	小麦サンプル名	水分 (g/100g)	たんぱく質 (g/100g)	脂質 (g/100g)	灰分 (g/100g)	炭水化物 (g/100g)	糖質 (g/100g)	食物繊維 (g/100g)	エネルギー (kcal/100g)	ナトリウム (mg/100g)	食塩相当量 (g/100g)
	日本食品標準成分表(2015)	14.5	12.8	2.9	1.6	68.2	57	11.2	328	2	0
1	1CW	9.5	14.6	2.8	1.9	71.2	58.9	12.3	344	2.7	0.0069
2	JWC49 鴻巣25号	9.4	13.5	2.8	1.6	72.7	60.1	12.6	345	2.5	0.0064
3	JWC69 北栄	9.3	13.8	2.8	2	72.1	59.9	12.2	344	2.2	0.0056
4	JWC77 ユキチャボ	9.4	14.5	2.8	1.7	71.6	59.3	12.3	345	2.2	0.0056
5	JWC29 広島シプレー	9.2	13.1	3	1.7	73	58.9	14.1	343	2.4	0.0061
6	JWC81 アブクマワセ	9.5	13.1	2.9	1.6	72.9	61.5	11.4	347	2.3	0.0058
7	JWC35 江島神力	9.1	12.4	3	1.7	73.8	60.4	13.4	345	2.9	0.0074
8	ゆめちから	9.3	14.9	2.5	1.9	71.4	56.6	14.8	338	2.8	0.0071
9	みのりのちから	9.4	11.9	2.5	1.7	74.5	61.8	12.7	343	2.6	0.0066
10	きたほなみ	9.7	10.6	2.7	1.6	75.4	64.8	10.6	347	2.3	0.0058
11	<i>S. cereale</i> 4283	9.6	8.4	2.7	1.9	77.4	60.1	17.3	333	2.8	0.0071
12	<i>T. aestivum</i> 4289	9.9	11.4	2.6	1.8	74.3	61.7	12.6	341	2.8	0.0071
13	<i>Triticale</i> 4295	9.5	10.6	2.2	2.1	75.6	62.4	13.2	338	2.9	0.0074
14	<i>S. cereale</i> 4313	9.5	9.6	3	2.1	75.8	57.7	18.1	332	2.1	0.0053
15	発芽赤米	14.5	8	3.1	1.4	73	68.8	4.2	344	1.2	0.003
16	ダイシモチ	12.6	8.2	3.2	1.7	74.3	58.8	15.5	328	4.1	0.01
17	丸麦	11.1	8.7	2	1.1	77.1	66.7	10.4	340	1.9	0.0048
18	GABAの恵	14.4	7	4.2	1.3	73.1	69.4	3.7	351	1.7	0.0043
19	国産玄小麦	13.8	12.1	2.4	1.4	70.3	60.8	9.5	332	1.4	0.0036
20	うるちあわ	12	10.4	1.9	0.6	75.1	74	1.1	357	検出せず	検出せず
21	もちきび	13.2	13.4	3.1	1.3	69	66.8	2.2	353	2.7	0.0069
22	スーパー大麦	10.5	14.8	8.1	1.8	64.8	41	23.8	344	5.9	0.015
23	キヌア	13.5	11.8	6.2	2.3	66.2	59.9	6.3	355	1.2	0.003
24	国産十五穀米	14.1	22.3	8.4	3.1	52.1	44.8	7.3	359	3.6	0.0091
	測定方法	常圧加熱乾燥法 燃烧法			酸分解法	直接灰化法	酵素-重量法		原子吸光度法		
	注	1			2		3		4		5

注1. 窒素・たんぱく質換算係数:5.83

注2. 食品表示基準(平成27年内閣府令第10号)による計算式:100-(水分+たんぱく質+脂質+灰分)

注3. 食品表示基準(平成27年内閣府令第10号)による計算式:100-(水分+たんぱく質+脂質+灰分+食物繊維)

注4. 食品表示基準(平成27年内閣府令第10号)によるエネルギー換算係数:たんぱく質,4;脂質,9;糖質,4;食物繊維,2

注5. 計算式:ナトリウム×2.54

日本食品標準成分表（2015）に記載されている全粒粉の成分を基準とし、緑色で示した。また、その基準を下回る数値は青色、上回る数値は赤色で示した。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

今回得られた研究結果から、好ましい全粒粉パンの香味および高い食物繊維含有量を示した品種の活用について、研究協力者の日本製粉株式会社と検討を続ける。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

栄養成分は産地や収穫年による差が大きく、品種ごとの傾向の見極めには、今後の分析値の蓄積が必須であると考えられる。これらの結果から、優れた栄養成分をもつ穀類の選抜ができれば、現代の消費者需要を満たす健康機能性に富んだ全粒粉パンの開発が期待できる。

10. 公表した成果一覧

日本食品科学工学会において学会発表および論文発表予定

2020年度 東京農業大学 ゲノム育種プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 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（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に関わること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

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) および miRBase (<https://www.mirbase.org>) を用いてマイクロトム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。そこで目的遺伝子を、アグロバクテリウムを介して導入する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、マイクロトム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。

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

カルスから個体再生を高効率で誘導する条件を確立することが出来たので、トマトに感染する複数ストレインのアグロバクテリウムをそれぞれ感染させ、どのストレインの感染効率が良いか検討する。

10. 公表した成果一覧

- 1) Islam, M. et al. Activation of SnRK2 by Raf-like kinase ARK represents a primary mechanism of ABA and abiotic stress responses. *Plant Physiol* (2020) in press.
- 2) Ono, M., Isono, K., Sakata, Y. & Taji, T. CATALASE2 plays a crucial role in long-term heat tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Biochem Biophys Res Commun* 534, 747–751 (2020).
- 3) Isono, K. et al. An ER-Golgi Tethering Factor SLOH4/MIP3 Is Involved in Long-term Heat Tolerance of *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* (2020).

2020年度 東京農業大学 ロシア共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 丹羽 光一

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ロシアンミツバチとその生産物の特性に関する研究 (ミツバチによるポリネーションの持続と新たな食品開発を目指して)	1,500,000

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	丹羽 光一	生物産業学部 食香粧化学科・教授	研究総括
研究分担者	佐藤 広顕	生物産業学部 食香粧化学科・教授	試料調達、センサー解析、 官能評価
	Yury Prikhodko	ロシア極東連邦大学生物医学部・教授	試料・文献調達、ロシア側 研究コーディネート
	吉田 穂積	生物産業学部 北方圏農学科・教授	花卉分析
	遠藤 明仁	生物産業学部 食香粧化学科・准教授	腸内細菌遺伝子解析
	内野 昌孝	生命科学部 分子微生物学科・教授	試料成分分析

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年目）

4. 研究目的

本研究は、ロシアンミツバチおよび日露のハチミツの特徴を調べる事によって、1) ミツバチの減少に対する対策と 1) 新たなハチミツの需要の掘り起こしに関する知見を得る事を目的とする。ミツバチの腸内細菌から病原耐性のある菌種が見出せれば、ミツバチのプロバイオティクスとして病原性に耐性のあるミツバチの育種に寄与できる。またロシア産蜂蜜の特徴を調べる事は食品科学的に重要なだけでなく、日本人の嗜好性に合えば、これを日本に導入することで新たな食品開発・需要の掘り起こしにつながる。

前年度までに、ミツバチの腸内細菌の解析を行い、病原耐性のある菌を見出した。今年はこの菌種と同様に病原耐性のある細菌がハチミツ中に含まれるか、またその菌が産生する耐性物質がどのような性状であるかを明らかにすることを目的とした。ハチミツのセンサー解析では、本年度は新型コロナウイルスの影響でロシア産のハチミツが入手できなかったことから、蜜源の明らかな日本のハチミツの特性を分析し、同じ蜜源であればロシア産ハチミツと日本産ハチミツの香味特性は同じとなるのかをテストした。

5. 研究（実験）方法

1) ハチミツ中の乳酸菌フローラの解析

採蜜直後の新鮮なハチミツを網走市の養蜂業者より購入した。このハチミツを生理食塩水により希釈し、希釈液をフルクトース添加 MRS (FMRS) 培地に平板塗抹して一晩培養し、フルクトフィリック乳酸菌 (FLAB) を分離した。分離株の抗菌活性を調べるため、培養後に遠心分離及び熱殺菌をすることで培養上清を調整した。バクテリオシン活性試験の指標菌には *Lapidilactobacillus dextrinicus* および *Latilactobacillus sakei* を用いた。分離株の同定をするため、ミツバチ消化管の優勢菌の一種である *Apilactobacillus kunkeei* 特異的 PCR を行った。次に、新規バクテリオシン生産性分離株とこれまでに我々が見出しているバクテリオシン生産性 FLAB の菌株タイピングを行った。また、生産されるバクテリオシンの構造を調べるため、バクテリオシン生合成遺伝子のシーケンスを行い、バクテリオシンのアミノ酸配列を決定した。

2) ハチミツ性状の解析

専門技術を有した養蜂家に採蜜から精製までを依頼し、蜜源が明らかで純粋なハチミツを7種調整した。また、網走近郊の養蜂家より採蜜直後の新鮮な一般市販ハチミツを5種入手し、これら12種類のハチミツを分析に供した。

センサー分析では、色彩測定を分光測色計 (CM-3500d : コニカミノルタジャパン株式会社) にて、呈味測定を電子味覚システム (α -ASTREE : Alpha M.O.S Japan 株式会社) にて、また香気測定をにおい識別センサーシステム (α -FOX : Alpha M.O.S Japan 株式会社) にてそれぞれ測定・解析した。

成分分析は、水分をポケットはちみつ水分計 (PAL-22S : 株式会社 ATAGO) にて、各種ミネラルを各種イオンメーター (Ca^{2+} ・B-751、 Na^{+} ・B-722、 NO_3^{-} ・B-743、 K^{+} ・B-731 : 株式会社堀場製作所) にて、pH をガラス電極 pH メーター (F-70 : 株式会社堀場製作所)、総酸度を直接滴下法にて、全糖量をフェノール・硫酸法にて、鉄分を σ フェナントロリン比色法にてそれぞれ測定した。

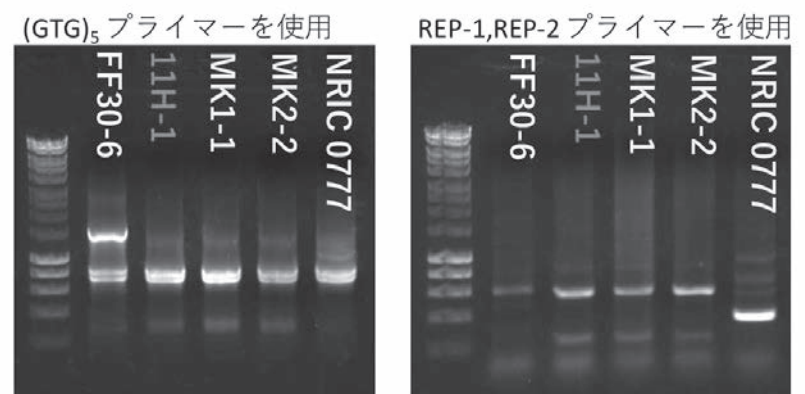
6. 研究成果

1) ハチミツ中の乳酸菌フローラの解析

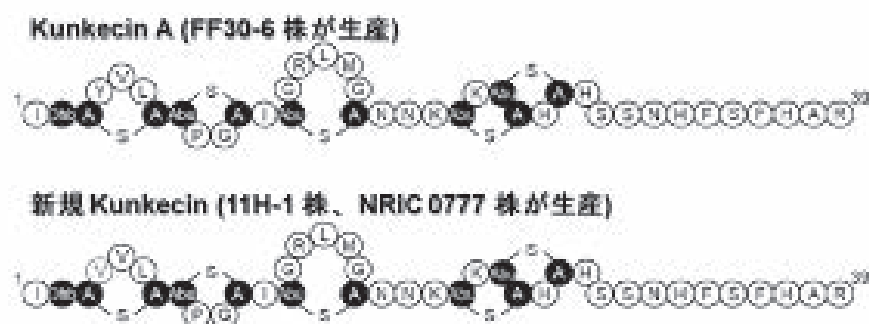
新鮮なハチミツより、バクテリオシン生産性 FLAB である 11H-1 株を分離した。本菌株は特異的 PCR により、*Apilactobacillus kunkeei* 11H-1 と同定された。本菌株は昨年度我々がミツバチより見出したバクテリオシン生産性 FLAB である MK1-1 株、MK2-2 株と非常に近似していたが、FF30-6 株、NRIC 0777 株とは異なっていた。

11H-1 株のバクテリオシン生合成遺伝子をシーケンスしたところ、本菌株はランチオニンなどの異常アミノ酸を含む 39 アミノ酸残基からなるバクテリオシン (ランチビオティック) を生産することが明らかとなった。また、このバクテリオシンは我々が先の研究で見出した *A. kunkeei* FF30-6 株が生産する新規バクテリオシン *kunkecin A* とは1アミノ酸残基異なる (4番目のチロシンがバリンに置換されている)、更なる新規バクテリオシンであることも明らかとなった。一方で、NRIC 0777 株は 11H-1 株と同様のバクテリオシンを生産すると考えられた。FF30-6 株、NRIC 0777 株、11H-1 株の抗菌活性については現在検討中である。

Fig. 1. REP PCR による菌株タイピング



**Fig. 2. それぞれの*A. kunkeei* 菌株が生産する
バクテリオシンの構造**



2) ハチミツ性状の解析

Table 1 に性状分析に供した 12 種の北海道産ハチミツ試料とその蜜源を記載した。

蜜源ごとの呈味を呈味センサーで比較すると、ロシアで好まれるシナノキを蜜源とする 2 種類のハチミツは、いずれも第一象限に分類された (Fig. 3)。昨年度の結果では、ロシア産のシナノキを蜜源とするハチミツも第一象限に分類されたことから、ハチミツは蜜源が同じであれば産地やミツバチの種類にかかわらず同様の呈味となることが示唆された。この結果をレーダーチャートにすると、ロシアで好まれるシナノキ産のハチミツは、茶苦味、甘味、塩味および金属味で強い反応を示し、特徴的呈味を有することが明らかとなった (Fig. 4)。

主成分の分析では、シナノキのハチミツはカリウム量が高く、pH が高いという傾向が認められた (Table 2)

Jh-Ac1	あばしり呼人はちみつアカシア蜜600g	アカシア
Jh-Sin	あばしり呼人はちみつ菩提樹蜜600g	シナノキ
Jh-Hya	あばしり呼人はちみつ百花蜜600g	レンゲ
Jh-Cl1	あばしり呼人はちみつクローバー蜜600g	クローバー
Jh-Da	あばしり呼人はちみつタンポポ蜜125g	タンポポ
Jh-Sin2 ☆	高純度精製単花蜂蜜	シナノキ
Jh-Ren ☆	高純度精製単花蜂蜜	レンゲ
Jh-Po ☆	高純度精製単花蜂蜜	リンゴ
Jh-Mi ☆	高純度精製単花蜂蜜	ミカン
Jh-Cl2 ☆	高純度精製単花蜂蜜	クローバー
Jh-Ac2 ☆	高純度精製単花蜂蜜	アカシア
Jh-Chb ☆	高純度精製単花蜂蜜	サクラ

☆ = 高純度精製単花蜂蜜

Table 1 分析に供したハチミツとその蜜源

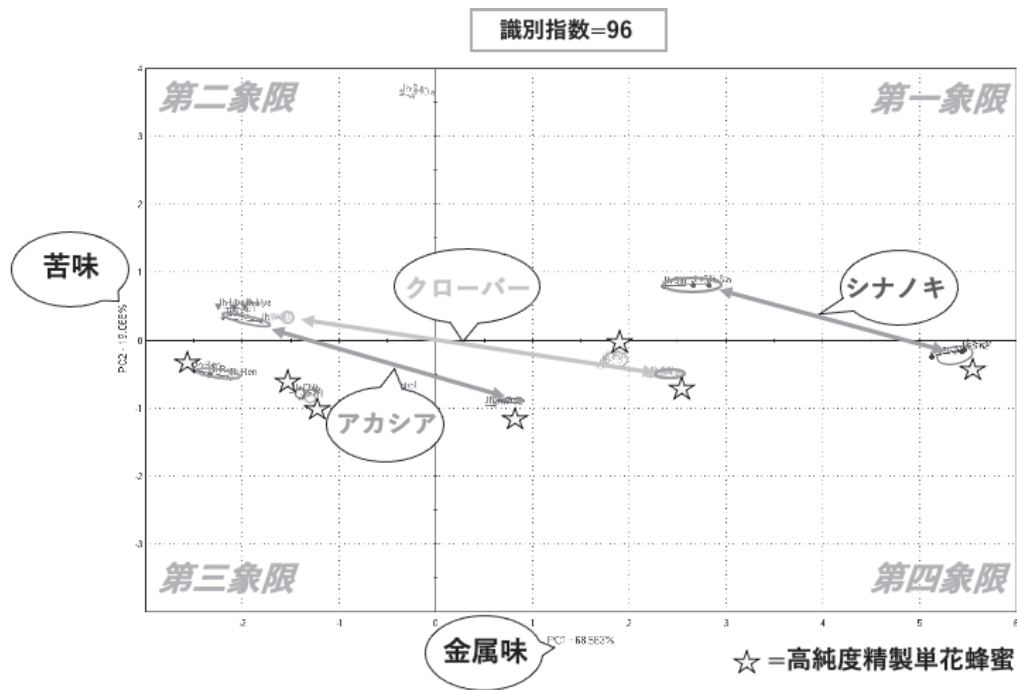


Fig. 3 センサーによる呈味分析

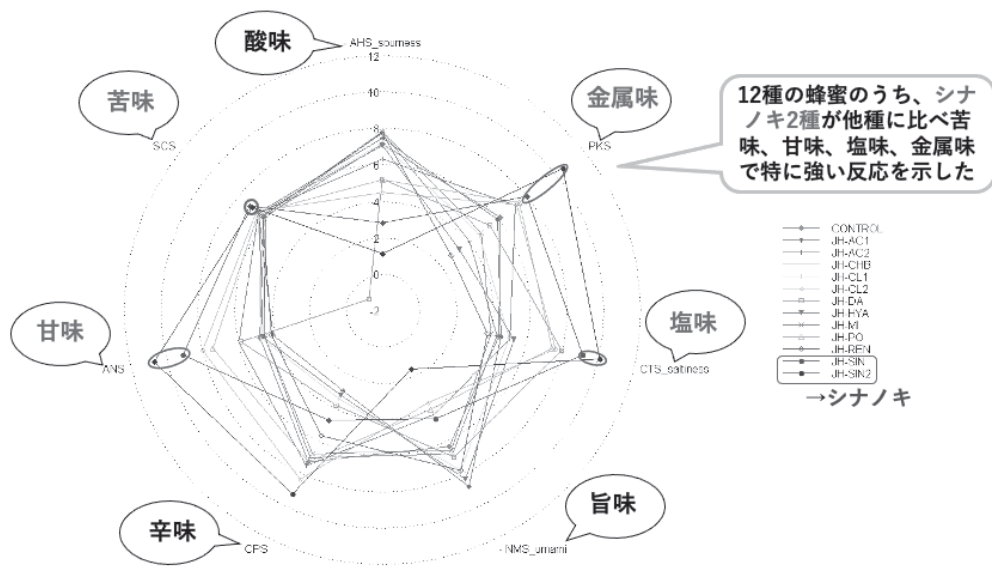


Fig. 4 センサーによる呈味分析のレイダーチャート

	水分 (%)	Ca ²⁺ (mg/100g)	K ⁺ (mg/100g)	Na ⁺ (mg/100g)	NO ₃ ⁻ (mg/100g)	pH (mg/100g)	全糖量 (%)	鉄分 (mg/100g)
control	17.3±0.07	3.67±0.27	17.33±0.27	2.00±0.00	4.00±0.00	3.94±0.003	62.84	0.110
Jh-Ac1	16.6±0.05	3.00±0.00	21.33±0.27	1.67±0.27	6.00±0.00	4.06±0.000	57.44	0.035
Jh-Sin1	19.0±0.03	6.00±0.00	160.00±0.00	2.33±0.27	11.00±0.00	5.53±0.020	60.18	0.056
Jh-Hya	17.4±0.09	7.33±0.27	61.33±0.72	3.00±0.00	7.00±0.00	4.02±0.005	66.91	0.074
Jh-Cl1	17.5±0.15	3.33±0.27	31.33±0.27	2.00±0.00	6.00±0.00	3.91±0.000	62.25	0.044
Jh-Da	18.1±0.07	8.00±0.00	67.67±0.72	5.00±0.00	9.33±0.27	4.28±0.005	66.34	0.087
Jh-Sin2☆	17.4±0.07	7.67±0.27	150.00±0.00	2.00±0.00	13.33±0.27	5.30±0.030	63.26	0.061
Jh-Ren☆	20.4±0.03	4.00±0.00	70.33±0.72	3.00±0.00	4.33±0.27	3.99±0.003	69.35	0.061
Jh-Po ☆	18.7±0.03	12.67±0.27	72.33±0.98	6.00±0.00	11.67±0.27	4.73±0.005	67.18	0.066
Jh-Mi ☆	19.1±0.03	4.00±0.00	19.33±0.27	1.00±0.00	5.00±0.00	3.83±0.005	67.93	0.034
Jh-Cl2 ☆	23.4±0.03	9.67±0.27	170.00±0.00	3.00±0.00	12.00±0.00	4.84±0.005	58.07	0.056
Jh-Ac2 ☆	19.4±0.05	4.33±0.27	19.33±0.27	2.00±0.00	6.00±0.00	4.09±0.010	61.29	0.027
Jh-Chb☆	19.9±0.03	6.67±0.27	51.0±0.47	2.00±0.00	4.33±0.27	4.15±0.005	64.05	0.063

☆ = 高純度精製単花蜂蜜

Table 2 ハチミツの主成分分析

7. 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

8. 残された問題点と今後の研究推進方策

ミツバチ腸内細菌の解析では、複数のバクテリオシン生産菌を見出してきた。今後はこれらの比較を行い、アミノ酸配列やホストの違いが抗菌活性にどのような影響を及ぼすのか明らかし、実際にミツバチにプロバイオティクスとして用いた時に、腸内細菌や病原菌にどのような影響を及ぼすのか明らかにする必要がある。これを実証するには、ミツバチの生態に詳しい専門家を交えた複数のチームの構成が必要である。

ハチミツの官能センサー解析では、ロシアで好まれる濃厚な香気や味わいを有する色調のシナノキ産のハチミツと、日本で好まれる淡白な香気や味わいを有する色調の淡いアカシア産のハチミツの特徴の相違を数値で明らかにすることができた。しかし、多様な蜜源を判別するには、個々の製品における製造プロセスや同一の官能評価者による評価などの情報の集積が必要となる。

今回、ロシア産のハチミツの特徴を明らかにすることができたが、日本とロシア間でそれぞれのハチミツの流通を盛んにするためには、社会科学的な研究と計画が必要になる。協力できる企業やコンサルタントと協調することで、日露におけるハチミツの流通が活性化することが期待できる。

9. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Zendo T, Ohashi C, Maeno S, Piao X, Salminen S, Sonomoto K, **Endo A.** (2020). Kunkecin A, a New Nisin Variant Bacteriocin Produced by the Fructophilic Lactic Acid Bacterium, *Apilactobacillus kunkeei* FF30-6 Isolated From Honey Bees. *Frontiers in Microbiology* 16;11:571903.

2020年度 東京農業大学 ロシア共同研究プロジェクト 農生命科学研究所プロジェクト申請書

研究代表者 大浦 裕二

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額（円）
ロシアウラジオストク地域におけるイチゴのフードバリューチェーン構築に向けた市場性調査	1,454,000 円

2. 研究組織

	氏名	所属名・職名	研究の役割
研究代表者	大浦 裕二	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	研究統括 消費者および流通調査
研究分担者	坂田 洋一	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	極東連邦大学 (FEFU) および協業企業等との連絡調整

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（1年目）

4. 研究の背景

近年、ロシア極東地域の経済発展は目覚ましく、また日本からも日本航空の直行便が就航するなど、日本に最も近いヨーロッパであり、魅力ある観光地としての地位を確立しつつある。さらに、中国や韓国に距離的にも近く、農産物輸出の観点から立地条件はアメリカやヨーロッパと比較して有利であり、ロシア極東地域で農業を中心とした産業の発展が期待される。しかし、この地域、特にウラジオストク地域は、土壌環境が良好ではないことに加えて冬場には-20度以下の気温になることから露地栽培には不向きであるため施設園芸栽培が適している。

施設園芸栽培の一つとしてオランダ式施設園芸システムが挙げられるが、これらは多収量の品種を用い、多くのプロセスを自動化することで人件費を削減し、収益性を上げる施設型園芸栽培が基本となることから、イニシャルコストが高く、栽培品種に限られる特徴を有している。つまり、地域の雇用を生まないこととなり、地域の活性化に繋がらないなどの難点が挙げられている。

一方、日本の農業は、個人事業主、もしくは少人数グループで、狭い面積で効率的に生産する施設園芸モデルが確立されている。特に果物のなかでもイチゴにおいては地域性や味覚に特徴がある品種が多く、「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、こういった果物の品種の栽培に適した施設園芸の設備も独自に開発が進められている。この日本型施設園芸モデルをロシア極東地域において導入することにより、多くの日本企業が関わり、ひいては技術革新とともに産業の活性化が見込まれる。

5. 研究目的

本研究では、イチゴのフードバリューチェーンを構築することを目指し、イチゴに関する流通・消費の現状における実態を俯瞰し、今後求められる品種特性や普及上の課題について検討を行うことを目的とする。

本研究の構成は以下の通りである。まずロシアにおける果物消費の動向を統計調査およびアンケート調査を用いて把握し、ロシアの果物消費の特徴および果物におけるイチゴの位置づけを明らかにする。次に、実際にウラジオストクで販売されているイチゴの動向について俯瞰する。そして、ロシアにて生産・販売することを想定した品種として「よつぼし」を選定し、「よつぼし」に対するロシア在住者を対象とした消費者評価を明らかにする。これらを踏まえて、最後にロシアにおける日本イチゴに対する市場性について考察を行い、今後求められる品種特性や普及上の課題について検討を行う。

6. 研究方法

(1) ロシアにおける果物消費の特徴

①統計資料調査

ロシアにおける果物消費の特徴を明らかにするために、FAOSTATのNew Food Balanceを使用した。対象国はロシア、タイ、フランス、イギリス、ドイツ、インドネシア、日本である。また品目についてはApples and products, Bananas, Citrus Other, Dates, Fruits Other, Grapefruit and products, Grapes and products, Lemons, Limes and products, Oranges, Mandarins, Pineapples and products, Plantainsを主要な果物として集計を行った。

②アンケート調査

続いて、統計資料調査だけでは把握できない果物の消費実態を明らかにするために、諸外国と比較した果物消費のアンケート調査を実施した。対象者はロシアに居住する20歳から79歳までの男女(計120名)であり、電子アンケートフォームに入力する形式で回答してもらった。

ロシア消費者の果物消費の特徴を把握するために、ロシア以外の諸外国(日本、タイ、インドネシア、イギリス、ドイツ、フランス、シンガポール)の果物消費動向との比較を行う。ロシア以外の国々の消費動向としては先行研究(山本(2016))にある2015年2~3月に収集したデータを用いて、本アンケート調査で得たロシア消費者の果物消費の動向と比較を行った。

(2) ウラジオストクの小売店におけるにおけるイチゴの取り扱い状況

ロシアに拠点をおく調査会社を通してウラジオストクに店舗を持つ小売店にイチゴの取り扱い状況に関するヒアリング調査を行った。ウラジオストクの食品を取り扱う小売店は様々な形態で約1,500店程度存在する。ただし、ウラジオストク地域の特殊性として全国的なチェーンの進出がほとんどないことが挙げられる。ウラジオストクでは、極東連邦管区全域と同様に、食品小売市場では地元のチェーン企業が圧倒的な地位を占めている。

調査対象としたウラジオストク内の小売店の概要を表1に示す。また、ウラジオストクの小売店との比較を行うために日本の小売店の概要も併せて示した。主な調査項目としては、極東地域におけるイチゴ市場について、イチゴの取り扱い状況について、取り扱いにあたってのイチゴの位置付けについて、国別産地・価格の決定方法について、認識している課題等である。

表1 ウラジオストク市内および日本の食料品小売店の概要

	FRESH25スーパーチェーン	PARUSスーパーチェーン	Remi/レミン	Samberi/サンベリー	ライフ	サミット	まいばすけっと
事業内容	2003年創立。沿海地方最大の小売チェーン。	極東で食品、日用品、家庭用品、インテリア、子供向け商品を販売。	2008年設立。スーパーチェーン。	スーパーチェーン。品揃えの豊富さと大きな販売面積が特徴。	1910年創立。スーパーマーケットチェーン。	1963年創立。食品スーパーマーケット及びその他生活関連商品の小売チェーン。	2005年創立。都市型食品小型スーパー。
規模	従業員数は3000人以上。大型スーパー。	情報無し	情報無し	販売面積1,000~7,000平方メートル。	販売面積500~6000平方メートル。	販売面積450~3000平方メートル。	販売面積30~250平方メートル。
立地	沿海地方全域に55店舗。	ウラジオストクに大型スーパーマーケットは2店舗、ミニマーケットは複数ある。	極東では45のハイパーマーケットとスーパーマーケットが営業。ウラジオストクでは23店舗。	極東10都市に30店舗のハイパーマーケットを展開。ウラジオストクでは5店舗。	首都圏・近畿圏展開。270店舗。	東京・埼玉・神奈川県・千葉展開。117店舗。	東京・神奈川展開。750店舗。

※「まいばすけっと」について、経済産業省の業態分類表ではコンビニエンスストアに位置付けられるが、食料品のみ取り扱っている小型店舗であるため、今回は「小型スーパー」とする。

(3) 「よつぼし」に対する消費者評価

「よつぼし」に対する消費者評価を把握するために、北海道総合商事株式会社に委託して食味調査を実施した。新型コロナウイルス感染症の流行によりロシアでの調査は困難、また日本でロシアに居住経験のある対象者の確保も困難であることから、ロシアでの調査を北海道総合商事株式会社に委託した。調査に用いたロシア産「よつぼし」(写真1)の外観、味等を評価してもらった(写真2)。対象者は、20歳~79歳までの男女(計120名)である(表2)。



写真1 試食に使用されたロシア産「よつぼし」



写真2 調査風景

表2 調査対象者の属性（人）

年代	20代	30代	40代	50代	60代	70代	合計
男性	10	11	10	10	12	7	60
女性	10	10	10	10	10	10	60
合計	20	21	20	20	22	17	120

7. 研究成果

(1) ロシアにおける果物消費の特徴

①統計資料調査

対象国の果物消費の推移(kg/年間一人あたり)を示す(図1)。2018年の主要国の果物消費量は供給粗食料ベース(年間)でロシアが62.6kgであるのに対し、タイが88.4kg、フランスが82.9kg、イギリスが77.5kg、ドイツが78.1kg、インドネシアが66.1kgであったことから、ロシアの果物消費量は前述の諸外国に比較して少ない。ただし、ロシアの果物消費量は2016年53.9kg、2017年は56.3kgに対して2018年は62.6kgとやや増加傾向にある。なお、上述の諸外国に比較して日本は34.1kgであり、極めて果物消費量が少なくなっている。

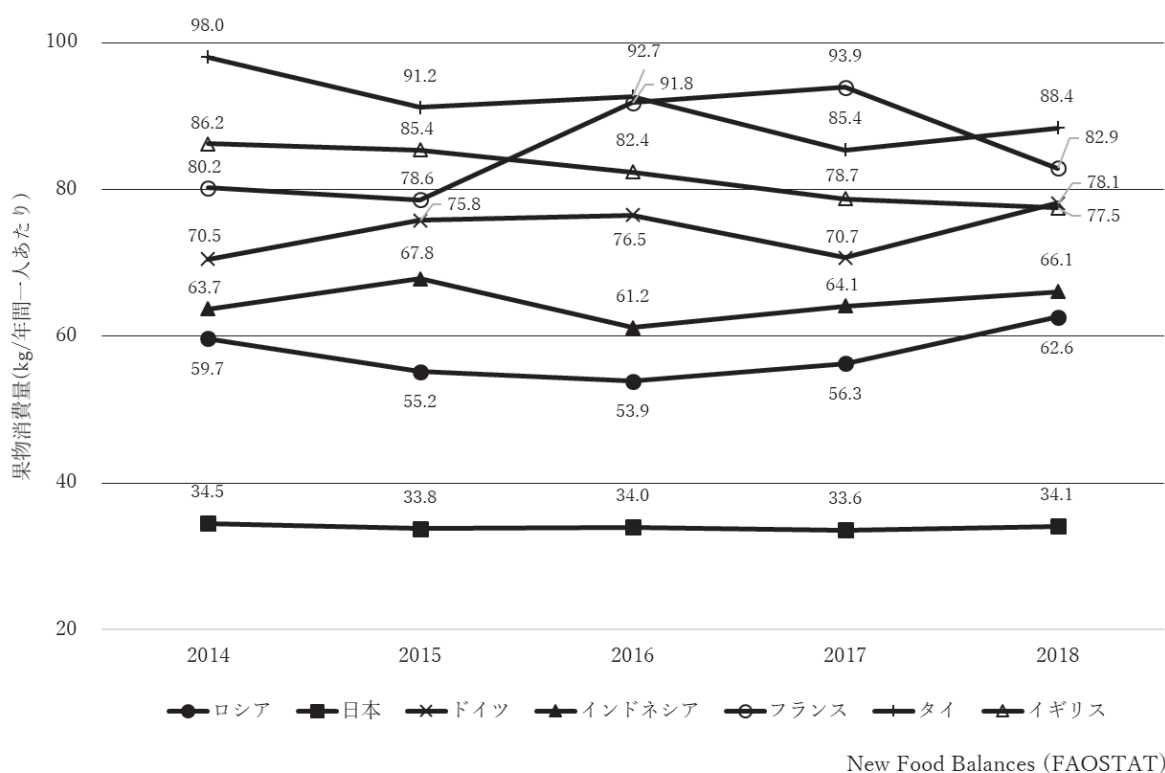


図1 主要7か国の果物消費の推移

続いて、世界の果物生産量と生産国上位10か国を示す(表3)。主要な果物として、本研究対象であるイチゴ、このほかにグレープフルーツ、バナナ、リンゴ、パイナップル、オレンジの生産量を確認する。これらをみると、イチゴおよびリンゴでロシアの生産量が多いことがわかる。イチゴについては世

世界の生産量が 888 万 5,028t であり、そのうちの 2% である 17 万 7,700t をロシアが生産している。

これらのことから、ロシアにおいて果物の消費量が諸外国に比較して多くないものの、増加傾向にあることから、今後も果物消費が増加する可能性がある。また、世界の果物生産量をみると、イチゴの生産量が上位 10 か国に含まれていることからイチゴを生産する基盤がある国と考えられる。

表 3 上位 10 か国の果物生産量

	イチゴ			グレープフルーツ			バナナ		
	国名	生産量(t)	割合	国名	生産量(t)	割合	国名	生産量(t)	割合
1	中国	3,212,814	36%	中国	4,930,000	55%	インド	30,460,000	26%
2	アメリカ	1,021,490	11%	ベトナム	818,914	9%	中国	11,655,700	10%
3	メキシコ	861,337	10%	アメリカ	511,650	6%	インドネシア	7,280,659	6%
4	トルコ	486,705	5%	メキシコ	488,776	6%	ブラジル	6,812,708	6%
5	エジプト	460,245	5%	南アフリカ	378,634	4%	エクアドル	6,583,477	6%
6	スペイン	351,960	4%	タイ	281,728	3%	フィリピン	6,049,601	5%
7	ロシア	208,800	2%	スーダン	252,361	3%	グアテマラ	4,341,564	4%
8	韓国	192,971	2%	トルコ	249,185	3%	アンゴラ	4,036,959	3%
9	ポーランド	185,400	2%	イスラエル	148,800	2%	タンザニア	3,406,936	3%
10	モロッコ	167,827	2%	アルゼンチン	112,630	1%	コロンビア	2,914,419	2%
	リンゴ			パイナップル			オレンジ		
	国名	生産量(t)	割合	国名	生産量(t)	割合	国名	生産量(t)	割合
1	中国	42,425,400	49%	コスタリカ	3,328,100	12%	ブラジル	17,073,593	22%
2	アメリカ	4,997,680	6%	フィリピン	2,747,856	10%	中国	10,435,719	13%
3	トルコ	3,618,752	4%	ブラジル	2,426,526	9%	インド	9,509,000	12%
4	ポーランド	3,080,600	4%	インドネシア	2,196,456	8%	アメリカ	4,832,570	6%
5	インド	2,316,000	3%	中国	1,727,607	6%	メキシコ	4,736,715	6%
6	イタリア	2,303,690	3%	インド	1,711,000	6%	スペイン	3,226,870	4%
7	イラン	2,241,124	3%	タイ	1,679,668	6%	エジプト	3,197,046	4%
8	ロシア	1,950,800	2%	ナイジェリア	1,671,440	6%	インドネシア	2,563,485	3%
9	フランス	1,753,500	2%	メキシコ	1,041,161	4%	イラン	2,308,730	3%
10	チリ	1,621,321	2%	コロンビア	1,008,687	4%	トルコ	1,700,000	2%

②アンケート調査

まず国別の 1 週間あたりの果物摂取回数をみると (表 4)、タイが 14.6 回で最も多く、次いでインドネシア 13.6 回、イギリス 12.4 回と続いた。ロシアは 10.6 回で、シンガポール 10.6 回、フランス 11.2 回、ドイツ 11.7 回と同程度であった。なお、日本の果物摂取回数は 5.2 回と最も少なかった。このことから、東南アジア (タイ、インドネシア) の果物摂取回数が多く、また日本の果物摂取回数が少ないことが目立つものの、ロシアは 10.6 回で 1 日に 1 回以上は果物を摂取していることがうかがえる。

次に好きな果物をみると (表 5)、ロシアではリンゴが最も多く、次いでバナナ、ミカン、オレンジと続いた。上位はリンゴ、オレンジ、バナナのほか、イチゴ (ヨーロッパと日本)、マンゴー (東南アジア+ドイツ) など、全体的に似通った傾向がみられる。また、東南アジアでもリンゴ・オレンジが上位に来ていて、熱帯果実ばかりが上位を占めているわけではないことがわかる。なおロシアは、好きな果物の上位 10 品目のなかにイチゴが含まれない特徴がみられた。またよく食べる果物をみると (表 6)、タイを除くすべての国で 1 位から 3 位はリンゴ、オレンジ (ミカン)、バナナが占める。4 位以降にイチゴが

含まれる国もみられたが、ロシアはイチゴがみられない。

続いて果物購入時に重視することについて（表 7）、「味」が重視されることが考えられるが、購入時に判断できる内容（外観品質、表示など）についてのみ質問した。その結果、どの国も鮮度を最も重視し、次に価格が重視されている。ただし、日本以外の国は鮮度に特化して重視する傾向がみられるが、日本は鮮度と価格が拮抗しており、他の国と異なる特徴がみられる。その他の項目については国によって傾向が異なり、例えばイギリスでは大きさ、フランスでは国産、インドネシアでは香り、タイでは形などが重視されている。ロシアにおいては香りや国産かどうか重視されている傾向がみられる。

また果物に対するイメージをみると（表 8）、国別に異なる傾向がみられた。まずフランス、ドイツ、インドネシア、タイについてはプラスイメージの項目が高い割合を示した。具体的には、「おいしい」「健康によい」「ビタミンが多い」「手軽に食べられる」などが高く、「カロリーが高い」「食べるまでが面倒」などマイナスイメージは低い傾向がみられた。一方、日本は「値段が高い」「傷むのが早い」といったマイナスイメージの項目が高く、「バランスがよい食生活になる」「健康によい」「手軽に食べられる」などのプラスイメージは低い傾向がみられた。また、ロシアについては「おいしい」「ビタミンが多い」「健康によい」といったプラスイメージの項目が高い。

表 4 国別にみた 1 週間あたりの果物摂取回数

国名	合計
タイ	14.6
インドネシア	13.6
イギリス	12.4
ドイツ	11.7
フランス	11.2
ロシア	10.6
シンガポール	10.6
日本	5.2

※ 1 週間あたりの果物の摂取回数を質問し、平均値を示した。

表5 国別にみた好きな果物上位10品目

	1位	2位	3位	4位	5位	6位	7位	8位	9位	10位
ロシア	リンゴ 50.8	バナナ 39.2	ミカン 18.3	オレンジ 15.0	梨 12.5	メロン 10.8	マンゴー 10.0	パイナップル 6.7	ブント 5.8	イチジク 3.3
日本	イチゴ 55.1	桃 41.2	ミカン 29.2	リンゴ 21.5	梨 16.3	ぶどう 15.4	バナナ 12.0	メロン 9.2	その他 9.2	マンゴー 8.6
イギリス	リンゴ 36.9	バナナ 34.8	イチゴ 34.3	ぶどう 25.8	オレンジ 19.2	マンゴー 19.2	桃 17.7	さくらんぼ 14.1	ラズベリー 14.1	ブルーベリー 13.6
フランス	リンゴ 40.3	イチゴ 39.2	オレンジ 32.8	バナナ 31.7	さくらんぼ 17.7	桃 15.1	マンゴー 15.1	キウイ 12.9	梨 12.4	ラズベリー 11.3
ドイツ	リンゴ 41.2	バナナ 37.6	イチゴ 31.2	マンゴー 18.2	桃 18.2	ぶどう 16.5	その他 16.5	オレンジ 15.9	梨 15.9	さくらんぼ 15.3
インドネシア	オレンジ 45.3	リンゴ 39.7	マンゴー 27.9	バナナ 26.3	ぶどう 17.3	パパイヤ 16.8	スイカ 15.6	アボカド 14.5	ドリアン 14.0	メロン 11.2
タイ	オレンジ 39.0	マンゴー 33.8	リンゴ 25.8	バナナ 19.2	グアバ 18.3	ドリアン 16.9	スイカ 15.5	イチゴ 15.0	メロン 14.6	ぶどう 12.2
シンガポール	リンゴ 43.6	オレンジ 30.7	バナナ 25.1	マンゴー 21.8	ぶどう 19.6	ドリアン 18.4	イチゴ 15.6	スイカ 15.6	キウイ 11.7	パパイヤ 11.2

※自由記入により上位から順に3つまで回答してもらったものを集計

※日本の「ミカン」については、「ミカン」及び「温州ミカン」と記入されていたものを合計（他の柑橘類は含まれていない）

※諸外国の「オレンジ」はorange, mandarin, clementine, tangerine

表6 国別にみたよく食べる果物上位10品目

	1位	2位	3位	4位	5位	6位	7位	8位	9位	10位
ロシア	リンゴ 80.8	バナナ 40.8	ミカン 30.8	メロン 22.5	梨 22.5	オレンジ 17.5	レモン 4.2	パイナップル 4.2	グレープ フルーツ 2.5	ネクタリン ブント マンゴー 1.7
日本	ミカン 68.0	リンゴ 64.0	バナナ 49.2	イチゴ 32.9	キウイ 15.1	パイナップル 8.3	ぶどう 6.8	グレープ フルーツ 6.5	桃 4.9	梨 4.0
イギリス	リンゴ 63.6	バナナ 63.1	オレンジ 30.3	ぶどう 20.3	梨 18.2	イチゴ 16.2	ブルーベリー 12.6	温州ミカン 7.1	桃 6.6	キウイ 5.6
フランス	リンゴ 66.7	バナナ 53.8	オレンジ 52.2	キウイ 20.4	梨 19.4	イチゴ 12.4	桃 8.1	ぶどう 6.5	パイナップル 5.9	グレープ フルーツ 5.9
ドイツ	リンゴ 69.4	バナナ 59.4	オレンジ 37.6	ぶどう 18.8	梨 17.6	キウイ 12.9	イチゴ 12.4	その他 10.0	マンゴー 7.1	パイナップル 7.1
インドネシア	オレンジ 60.3	バナナ 45.8	リンゴ 38.0	パパイヤ 33.0	スイカ 19.6	マンゴー 16.2	メロン 10.1	アボカド 9.5	サラク 6.1	梨 5.6
タイ	オレンジ 49.3	マンゴー 42.7	グアバ 29.1	バナナ 26.8	スイカ 26.3	リンゴ 23.9	パイナップル 17.4	パパイヤ 13.6	レンブ 12.2	ぶどう 9.9
シンガポール	リンゴ 59.2	オレンジ 52.0	バナナ 34.6	ぶどう 25.7	スイカ 19.9	パパイヤ 17.9	梨 15.6	キウイ 9.5	イチゴ 7.8	パイナップル 7.8

※自由記入により上位から順に3つまで回答してもらったものを集計

※日本の「ミカン」については、「ミカン」及び「温州ミカン」と記入されていたものを合計（他の柑橘類は含まれていない）

※諸外国の「オレンジ」はorange, mandarin, clementine, tangerine

表7 国別にみた果物購入時に重視すること

	鮮度	色つや	形	香り	国産	地元産	価格	栽培方法	生産者	大きさ
ロシア	2.37	<i>0.33</i>	<i>0.07</i>	0.63	0.53	0.16	1.44	<i>0.17</i>	0.12	<i>0.15</i>
日本	<i>1.93</i>	0.61	0.09	<i>0.10</i>	0.57	0.06	1.88	<i>0.05</i>	0.05	0.57
イギリス	2.61	<i>0.15</i>	0.10	0.23	<i>0.09</i>	0.31	1.33	0.32	0.07	0.73
フランス	2.24	0.42	0.17	0.35	0.61	0.04	1.50	0.30	0.01	<i>0.25</i>
ドイツ	2.35	0.42	0.14	0.32	0.35	0.27	1.26	0.43	0.11	<i>0.23</i>
インドネシア	2.63	0.24	0.35	0.56	0.15	0.23	0.98	0.52	0.07	<i>0.24</i>
タイ	2.50	0.11	0.39	0.14	0.15	0.07	1.29	0.71	0.03	0.51
シンガポール	2.61	0.73	0.06	0.11	0.02	0.09	1.25	0.36	0.11	0.45

※「購入時に重視すること」を1位から3位まで選んでもらい、1位を3点、2位を2点、3位を1点として項目ごとの平均値を算出した。

※全体の平均から0.15ポイント以上高いものを太字、0.15ポイント以上低いものを斜体で示した。

表8 国別にみた果物に対するイメージ

	おいしい	新鮮	毎日食べたい	食生活になる	バランスがよい	健康によい	ビタミンが多い	値段が高い	抗酸化成分が豊富	美肌効果がある	適している	ダイエットに	カロリーが高い	食べるまでが面倒	手軽に食べられる	傷むのが早い
ロシア	90.0	74.2	<i>50.8</i>	44.2	82.5	85.0	<i>24.2</i>	37.5	<i>35.8</i>	49.2	<i>0.0</i>	3.3	65.0	<i>22.5</i>		
日本	79.1	<i>46.8</i>	<i>52.8</i>	<i>22.9</i>	<i>50.5</i>	<i>71.1</i>	55.5	<i>22.6</i>	59.5	<i>26.6</i>	8.3	16.3	<i>32.2</i>	42.2		
イギリス	<i>64.1</i>	70.3	<i>55.9</i>	62.6	71.8	<i>43.6</i>	<i>10.8</i>	<i>35.4</i>	<i>52.8</i>	<i>23.6</i>	2.6	<i>0.0</i>	59.5	<i>20.5</i>		
フランス	88.4	73.5	66.3	70.2	81.8	81.2	42.5	48.6	<i>51.9</i>	52.5	3.9	<i>1.7</i>	67.4	47.0		
ドイツ	95.2	85.5	81.2	80.0	92.1	93.3	<i>23.6</i>	47.3	58.8	50.3	3.0	<i>1.8</i>	75.2	46.7		
インドネシア	87.5	86.6	83.0	67.0	86.6	92.9	55.4	79.5	88.4	84.8	5.4	2.7	83.9	44.6		
タイ	87.8	73.6	81.8	58.8	88.5	89.9	48.6	82.4	89.9	69.6	8.1	4.1	81.8	38.5		
シンガポール	<i>52.3</i>	66.3	<i>55.8</i>	57.6	77.9	73.3	<i>9.9</i>	46.5	<i>40.1</i>	39.5	<i>0.6</i>	<i>2.3</i>	<i>52.9</i>	<i>18.0</i>		

③統計資料調査とアンケート調査のまとめ

以上の統計資料調査ならびにアンケート調査を踏まえると、ロシアにおける果物消費の特徴として以下のように整理できる。まずロシアの果物消費の状況として、1週間に10回ほど果物を食べているものの、果物の年間消費量は62.6kgで、対象国のなかでは決して多くはない。また果物に対しておいしい、健康によい、ビタミンが多いなど、良いイメージを抱いて、香りと国産かどうかを重視して購入している。果物のなかでもオレンジ、バナナ、リンゴが中心的な品目であることが明らかとなった。これらを踏まえると、諸外国に比較すると消費量が少ないことからロシアでは生活のなかで果物が身近とはいえないが、果物に対してプラスのイメージを持っていることから、今後、果物消費を増加させる余地があると推察される。

次に、ロシアにおけるイチゴの消費の状況をまとめると、生産量は上位10か国に位置していたが、ア

ンケート調査結果によると、イチゴは好きな果物やよく食べる果物の上位ではないことが明らかとなった。このことから生産基盤はあるものの、現時点では消費者はイチゴに興味がありませんと思われる。

以上の2点のまとめを踏まえると、今後のイチゴの販売方策として香りがよく、国産を強みとしたイチゴを生産・販売することにより、果物消費の拡大につながる可能性があることが示唆された。

(2) ウラジオストックの小売店におけるにおけるイチゴの取り扱い状況

まず極東地域におけるイチゴの季節別の流通について確認する。夏頃の国内露地生産最盛期においては、個人農家中心に直売所や自由市場等での流通が主要となっており、大量のイチゴが年間を通じ最も低い価格で流通する季節である。一方で、冬場の国内露地生産がなくなる時期においては、輸入品のイチゴがスーパーマーケットや青果専門店などで販売されるのが一般的である。なお、近年、インターネットや SNS を利用した取引が盛んになってきているが、イチゴの年間販売量に占める割合はまだそれほど高くなく、季節を問わず、イチゴ取引に占める位置づけとしては大きくない。

次に、小売店別の具体的なイチゴの取り扱い状況について確認する。ヒアリング時（12月～1月）において調査対象とした10社のうち、イチゴを販売していたのは5社のみであった。ウラジオストックにおいては夏場がイチゴの最盛期であることを踏まえると、最盛期でない冬場においては半数の小売店ではイチゴが必要」とされているとも解釈できる。

また、イチゴの需要と供給について、概ね安定しているとの回答が目立ったものの、調査時においては新型コロナウイルス感染症が流行しており、通常時に比較して検疫対策が厳しくなっていたため、輸入イチゴの供給が不足しているとの声もあった。さらに、ロシア国内産の供給も十分ではないため、市場ではイチゴが不足しているという回答もみられた。特に新型コロナウイルス感染症の流行を受けているのは、通常時に流通量が多かった中国産、韓国産であり、同産地の調達が難しく、供給不足となっている。ウラジオストック市場では、中国産、韓国産、エジプト産、トルコ産、アルメニア産、イスラエル産の流通量が多いとの回答が多い一方、地元沿海州の生産者である「ヴラドベリー社」のイチゴや、クリミア産の旬のイチゴを取り扱っている実績もみられ、海外産とロシア国内産が競争している様子がうかがえる。ただし、輸入されたイチゴの品質は、現地で生産されたものよりも劣るといふ声も一部みられた。

続いて、小売店におけるイチゴの位置付けを確認する。主にイチゴを生食或いは家庭での加工を想定して販売している。ただし、加工品向けのイチゴは、夏場の旬に安価なイチゴが流通する場合のみであり、それ以外の期間については生食を想定している。

小売店側からみた消費者のイチゴを購入する際に重視することは「価格」と捉えている。価格の他にも小さいイチゴよりも大きいイチゴが選択されることから「大きさ」、品種により異なる「香り」も重視されているとの声がみられた。「産地」については、地元のイチゴは輸入イチゴよりも品質が高く、新鮮で手頃な価格であると認識されているとの回答もあった。

売場におけるイチゴの位置付けとしては、日本にみられるような消費者の来店を促すような広告塔としての位置付けとは言い難い。日本においてはイチゴをプロモーションの一環として位置付け、利益は二の次で価格を下げて販売している小売店もみられるが、ウラジオストックの対象小売店においては純然たる利益商品と位置付けている。また、日本とは異なり、イチゴを他の果物との詰め合わせ販売を行っている小売店もあり、この点においても日本の小売店におけるイチゴの売場における花形のような位置付けとは異なることがうかがえる。

続いて、実際に販売されているイチゴの販売形態・価格を表9に示す。

容量について、200g、250g、300g、500g のプラスチック容器に入っていることが多い。また、日本にはみられない特徴として 1kg 以上の容器もみられ、それらの商品は店頭で包装して販売される。なお、1kg は大型スーパーだけでなくミニマーケットでも見受けられる。1kg 以外の商品についてはパック詰めされて小売店に納品されるが、従来からプラスチック容器の強度が不足していることが指摘されており、特に物流面において取り扱いに注意が必要となる。

産地についてロシア国内産の他に中国産、韓国産、アルメニア産、エジプト産、トルコ産、イスラエル産がみられ、ロシア国内産では地元生産者のヴラドベリー社が多い。なお、同一店舗内でも同じ産地のものが様々な価格で販売されており、単価との関係を見るとロシア国内産よりも韓国産が最も高く、エジプト産と続く。

価格については、1kg1,000RUB 前後が平均的だが、時期・産地によっては 3,600RUB 以上でも販売されていることがわかる。小売店はイチゴの価格が高いと認識しているケースが多いが、商品の特性や保管、配送の難しさを考慮すると正当な価格であると判断して販売している。価格が高いと認識されるイチゴだが、最盛期である夏場のみイチゴの価格下落が顕著になる。価格は仕入価格に左右されるが、廃棄ロスが発生しやすい品目のため 10~15%程度の廃棄ロスを前提に価格に織り込むことが多い。なお、調査対象とした小売店の担当者全員が、オフシーズンのイチゴの価格は今後数年でさらに上昇すると予想している。その背景として、新型コロナウイルス感染症の流行に伴う各国での検疫措置による規制体制が強化され、供給が不安定になる可能性を挙げている。

なお品種については、ロシア語表記のパッケージであるため十分に理解できているとは言い難いが、概ね品種名の記載がなく、「あまおう」「とちおとめ」といった品種名を強く押し出して販売している日本のイチゴの販売状況とは異なる点といえる。

そして、上記に記載した点も踏まえた現在のイチゴの取り扱い状況に関する課題として、「供給不足」と「流通における適切な温度管理」の 2 点が挙げられた。

「供給不足」について、ウラジオストックにおけるイチゴの需給比率は「需要は安定しており十分にあるが、供給は必ずしも満たされていない」との回答が多い。ロシア国内産が取引される地域市場ではイチゴの仕入れ先が不足しており、価格上昇や供給の不安定化につながっている。またロシア国内産だけでなく、輸入品においては新型コロナウイルス感染症の流行に伴う各国での検疫措置による規制体制が強化され、安定的な供給が見込めない状況にある。

「流通における適切な温度管理」について、イチゴの商品特性として棚持ちが悪いことがある。そのため速やかな配送が必要になるものの、大型店やチェーン店とは異なり、小規模な小売店には特別な冷却棚が設置されていないため、イチゴの取り扱いが困難な状況にある。また、輸入品においてはロシア国内産以上に適切な温度管理による配送が必須となるが、複数の事業者を経るため品質管理が行き届かない状況にある。

表9 ウラジオストック市内の食料品小売店におけるイチゴの取り扱い状況

産地	品種	小売店名	業種	容量(g)	金額(RUB) (円)	単価 (RUB/100g) (円/100g)	商品例
ロシア	-	パルス	大型スーパー・ミニマーケット	500	699 (1020円)	139.8 (204円)	
	-	フレッシュ25	大型スーパー	340	710 (1037円)	209 (305円)	
	-			250	524 (765円)	210 (306円)	
	-			250	675 (986円)	270 (394円)	
エジプト	-	パルス	大型スーパー・ミニマーケット	250	559 (816円)	224 (326円)	
	-			200	649 (299円)	325 (474円)	
	-	レミ	スーパーチェーン	250	259 (378円)	104 (151円)	
	-			250	399 (583円)	160 (233円)	
	-	サンベリー	スーパーチェーン	250	500 (730円)	200 (292円)	
	-	パルス	大型スーパー・ミニマーケット	250	799 (1167円)	320 (467円)	
	-	レミ	スーパーチェーン	250	599 (875円)	240 (350円)	
韓国	-	ヤッピ	スーパー	250	599 (875円)	240 (350円)	
	-	ベルヴォレチェン スキー・デパート	デパート	250	850 (1241円)	340 (496円)	-
	-	パルス	大型スーパー・ミニマーケット	1000	1039 (1517円)	104 (152円)	
	-	レミ	スーパーチェーン	160	239 (349円)	149 (218円)	
	-	サンベリー	スーパーチェーン	150	200 (292円)	133 (195円)	
	-	ベルヴォレチェン スキー・デパート	デパート	250	400 (584円)	160 (234円)	-
中国	-	不明	露店	1000	1400~1500 (2044~2190円)	140~150 (204~219円)	
	-	不明	個別店舗	1000	900 (1314円)	90 (131円)	
トルコ	-	パルス	大型スーパー・ミニマーケット	500	797 (1164円)	159 (232円)	
アルメニア	-	アナナシチ	ミニマーケット	1000	1520 (2219円)	152 (222円)	

1RUB=1.46円 (2021/3/22時点)

(3) 「よつぼし」に対する消費者評価

よつぼしに対する評価を10点満点で回答してもらった(図2)。総合評価は8.2点であり、10点満点であることを踏まえると、総合評価は高いといえる。個別の評価をみると、香りが9.3点で最も高く、次いで色が9.2点、断面が8.8点、外観8.7点、質感8.4点、味8.0点、後味7.8点と続いた。個別の評価すべてで7点以上であることを踏まえると、よつぼしの評価が高いことがわかる。

続いて、よつぼしの総合評価に影響を与える要因を明らかにするために、総合評価を被説明変数、香りや色といった個別の評価を説明変数とする重回帰分析を行った(表10)。その結果、調整済み決定係数は0.86であてはまりは概ね良好であった。個別の評価について、外観、味、後味、質感で正に有意な値が得られ、標準化係数については味が最も高かった。

以上をまとめると、よつぼしに対する評価は全体的に高く、なかでも香りや色の評価が高く、また総合評価には味が最も影響を与えていることが明らかになった。

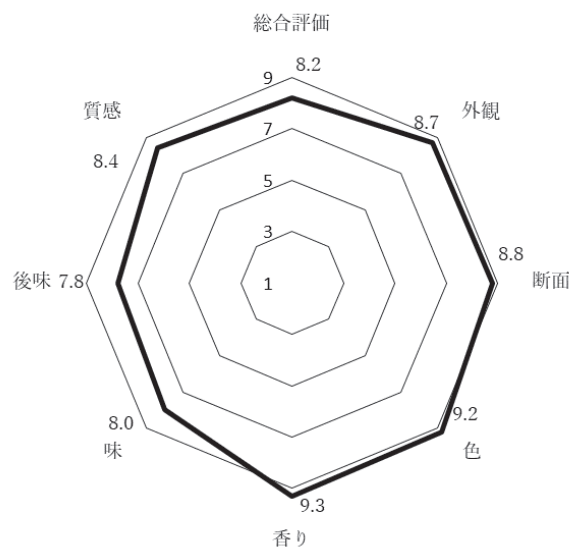


図2 よつぼしに対する消費者評価

表 10 重回帰分析によるよつぼしに対する消費者評価

	平均値	重回帰分析	
		標準化係数	有意確率
従属変数			
総合評価	8.16	-	-
独立変数			
外観	8.66	0.10	*
断面	8.84	-0.05	
色	9.17	0.03	**
香り	9.33	0.02	*
味	7.98	0.65	
後味	7.81	0.17	
質感	8.35	0.13	
決定係数		0.87	
調整済み決定係数		0.86	
n		120	

※ *は5%、**は1%で有意。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

ロシアにおけるイチゴを取り巻く現状として以下のことがいえる。イチゴの生産量は世界的に見ても多く、イチゴの生産基盤がある。しかし、果物の摂取頻度は他国に比較して多くなく、なかでもイチゴの人気の高いとはいえないことから注目されているとは言い難い。そのような状況であってもロシア内での果物購買時には、香りと産地が重視されている。イチゴについてはさまざまな生産国、パッケージ、容量のイチゴが販売されていることが明らかとなった。ただし、品種が強調される様子はなく、あまり注目されていない。実際によつぼしを試食してもらった際には同商品について高評価を受け、特に味、香り、外観が影響していることがわかる。

以上の結果を踏まえて、ロシアにおけるフードバリューチェーン構築に向けた提言を述べる。ロシアでは摂取頻度が多くないにもかかわらず、多くの国のイチゴが並んでいる状況にあった。このことからイチゴの日本型施設園芸モデルをロシア極東地域に導入する際にも競争が激しい市場であることが考えられ、差別化が課題となることが推察される。また、日本のようにイチゴの品種名を強調して販売している様子は見受けられなかったことから、ロシアでもなじみやすい品種名を冠することは他産地のイチゴとの差別化の方法として有用であると考えられる。その際、日本産イチゴの強みである味、香り、外観の良さを訴求しながら、高価格帯で販売することにより川下でのブランド力構築につながることを期待できる。これらのことから川下でのニーズが高まることで優位性を確保することが可能となり、川中・川上においても安定的に供給できるシステムの構築が可能となる。

このように、まずはウラジオストク地域でイチゴの日本型施設園芸モデルを用いたローカルフードバリューチェーンの構築することによりロシア極東地域における日本産イチゴにおけるブランド化を図ることが可能となろう。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

- ・現地で生産・流通・販売する仕組みの構築
- ・品種の選定など継続的なさらなる現地試験
- ・日本産イチゴに対するブランド力に関する継続的な調査

引用・参考文献

山本淳子他（2016）「果物に対する消費者の意識と行動：日本とヨーロッパ、東南アジア各国との比較」関東東海北陸農業経営研究 106 号 p.59-64。

10. 公表した成果一覧

なし

2020年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 太治 輝昭

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ゲノム編集による低シュウ酸含量ホウレンソウ育種を目指した VIGS 技術によるターゲット遺伝子の同定と形質転換系の確立	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	太治輝昭	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	形質転換系の確立とシュウ酸含量の測定
研究分担者	石橋和大	農研機構 生物機能利用研究部門 主任研究員	候補遺伝子の VIGS による発現抑制システムの作出

3. 研究期間

2020年6月9日～2021年3月31日

4. 研究の背景（当初）

ホウレンソウは葉酸などのビタミン類を多く含む栄養価の高い野菜であり、世界中で食される重要な野菜である。一方、ホウレンソウはシュウ酸含量が高く、腎結石の原因となり得る食品として知られており（またシュウ酸はエグ味の原因）、低シュウ酸化が望まれている。2016年に米国農務省にてホウレンソウ310品種のシュウ酸含量が測定された結果、生重量100gあたり647～1286mgの多様性が確認された。低シュウ酸含量ホウレンソウについては、変異株のスクリーニングが報告されているものの、実用化に至っていない。一方、シュウ酸の生合成または代謝経路については、モデル植物を中心にその経路で働く遺伝子がいくつか知られているものの、ホウレンソウにおける寄与度については不明である。

ホウレンソウについては分子レベルの研究が極めて少ない。2017年にゲノム解読が発表され、データベースが最近（2019年）公開されたばかりであることが一因と考えられる。加えてホウレンソウのアグロバクテリウムを介した形質転換法は未だ確立しておらず、これまでにホウレンソウ個体の遺伝子機能改変に関する報告はない。

そこで申請者は農研機構の石橋和大博士と共に2019年度学内共同プロジェクト「低シュウ酸含量ホウレンソウの分子育種に向けたターゲット遺伝子の検討」をスタートさせた。植物ウイルスベクターを利用したウイルス誘導ジーンサイレンシング（Virus-induced gene silencing, VIGS）のホウレンソウへの技術移転を検証したところ、効率よくVIGSを誘導可能なウイルスベクターを得ることに成功した。こ

のウイルスベクターを用いてシュウ酸生合成遺伝子と考えられる遺伝子群に対して VIGS を試みたところ、ほぼ全ての遺伝子について複数系統の発現抑制株の作成に成功した。シュウ酸含量を測定した結果、遺伝子 X の発現抑制株についてのみ、野生型あるいはベクター処理したコントロール植物と比較して、シュウ酸含量低下が複数系統で見られた。しかしながら試験に供した発現抑制株数は十分とは言えず、ターゲット遺伝子の選定にはより多くの発現抑制株を試験に供した上で判断する必要があった。

5. 研究目的

本研究では、ゲノム編集による低シュウ酸含量ホウレンソウの分子育種を目的に、VIGS によりシュウ酸含量に影響を及ぼすターゲット遺伝子の決定、およびホウレンソウ形質転換系の確立を試みた。

6. 研究（実験）方法

1) VIGS 技術によるシュウ酸含量に影響を及ぼすターゲット遺伝子の決定

- ① 高効率なウイルスベクターの検討（農研機構担当）
 - ② VIGS による候補遺伝子発現抑制によるシュウ酸含量への影響検討（農研機構・東京農大担当）
- 2) ホウレンソウ形質転換系の確立（東京農大担当）
- ① 種子滅菌条件の検討
 - ② カルス誘導条件の検討
 - ③ 再分化（芽）条件の検討
 - ④ 発根条件の検討
 - ⑤ 形質転換条件の検討

7. 研究成果

1) VIGS 技術によるシュウ酸含量に影響を及ぼすターゲット遺伝子の決定

ゲノム編集による低シュウ酸含量ホウレンソウの育種を目的に、VIGS によりシュウ酸生合成候補遺伝子群を発現抑制し、シュウ酸含量に影響を及ぼすゲノム編集ターゲット遺伝子を探索する。この成果が得られれば、ホウレンソウ内で初めて遺伝子工学的にシュウ酸含量に影響する遺伝子を同定したことになり、極めてインパクトの高い成果となると期待される。

① 高効率なウイルスベクターの検討（農研機構担当）

昨年度、2種のウイルスが利用可能であることを見出した。そのウイルスベクターを用いて、カロテノイド合成酵素をコードする *Phytoen desaturase* (*PDS*) 遺伝子を標的とする VIGS を誘導したところ、*PDS* 遺伝子の発現抑制に伴う植物体の白化が観察され、VIGS 実験系の確立に成功した。今年度は高効率なウイルスベクターを求めて、さらにもう2種のウイルスについて検討を行った。しかしながら、前出のウイルスベクターほどの効率は認められなかった。

② VIGS による候補遺伝子発現抑制によるシュウ酸含量への影響検討（農研機構・東京農大担当）

シュウ酸は、Isocitrate から Isocitrate lyase により Glycolate が、Glycolate が Glycolate oxidase により Glyoxylate からシュウ酸になる経路と、Ascorbate から Ascorbate oxidase によりシュウ酸になる経路が知られている。そこで本年度は、この生合成に関与することが予想される遺伝子をターゲットとし、VIGS による遺伝子発現抑制システムを作出してシュウ酸含量への影響を検討した。その結果、遺伝子 X については、複数の発現抑制株の作出に成功し、それらのシュウ酸含量を測定したところ、*GUS* 遺伝子を VIGS 処理したコントロール群と比較して、シュウ酸含量が低下した株が複数認められた。昨年度も同遺伝子

を発現抑制させた系統においてシュウ酸含量の低下が認められたことから、再現性を得ることが出来た。これにより、当該遺伝子がハウレンソウの低シュウ酸化に向けたゲノム編集のターゲット遺伝子となり得ることが示唆された。

2) ハウレンソウ形質転換系の確立 (東京農大担当)

他植物の形質転換方法を参考にアグロバクテリウムを介したハウレンソウ形質転換系を確立すべく、以下の①～⑤についてそれぞれ検討した。実験材料にはサカタのタネから販売されている、改良日本 (VIGS で用いている品種)、ノーベル、ミラージュ、クロノス、トラッド7、オシリス、リード、アクティブ、ソロモン、プログレス、ミストラル、ブライトン、サンライトの13品種を用いた。

① 種子滅菌条件の検討

一般に、ハウレンソウは種皮が硬いことから発芽率向上のため、種皮を剥き、ケイ酸化合物の粉末をコーティング (被覆処理) したコート種子として販売されている。そのため種子の滅菌処理を検討する必要があった。そこで70%エタノールでの処理時間、および5%次亜塩素酸ナトリウム溶液での転倒混和の処理時間をそれぞれ5分、10分、15分、20分とし、その全組合せについて検討した。その結果、70%エタノール10分、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液15分での処理が、コンタミネーションを発生させず、サカタのタネ記載の発芽率 (80%以上) に最も近い発芽率 (75%~83%) を示すことが明らかとなった。

② カルス誘導条件の検討

カルス誘導条件の検討として、MS培地に加える植物ホルモンの濃度を検討した。オーキシンとしてNAAを0.2 mg/L, 0.3 mg/L, 0.4 mg/L, 0.5 mg/L、サイトカイニンとしてBAを2 mg/L, 3 mg/L, 4 mg/L, 5 mg/Lとし、その全組合せについて検討した。その結果、0.3 mg/L NAA, 3 mg/L BAが最も旺盛なカルス形成を誘導することが明らかとなった。

③ 再分化 (芽) 条件の検討

再分化 (芽: 地上部) 条件の検討としては、MS培地にBAを2 mg/L, 3 mg/L, 4 mg/L, 5 mg/Lの各濃度添加し、不定芽の形成を調べた。しかしながら不定芽形成率については、いずれのBA濃度においても違いは認められなかった。そこでMS + BA (3 mg/L) 条件にてハウレンソウ13品種における不定芽形成を調べたところ、プログレス、ミストラル、改良日本の3品種において10~20%の不定芽形成率を示した。

④ 発根条件の検討

得られた不定芽をホルモンフリーのMS培地に継代し、植物体を再生、順化させた。しかしながら現時点において発根まで至っておらず、至適なオーキシンの種類・濃度の検討が必要である。

⑤ 形質転換条件の検討

形質転換系の検討のため、GFP蛍光タンパク質を発現させるpGH-mGFPベクターを用いて、改良日本、プログレス、ミストラルの胚軸切片に対して、アグロバクテリウム (GV3101) を介した形質転換を試みた。カルス誘導後1週間のカルスではGFP蛍光が認められなかった。さらに生育したカルスまたは再分化体の根を用いて再度GFP蛍光を確認する予定である。

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

昨年度に引き続き、遺伝子 X の VIGS 系統においてシュウ酸含量の低下が認められた。この結果より、当該遺伝子が低シュウ酸含量ハウレンソウの分子育種におけるターゲット遺伝子になり得ることが示唆された。しかしながら、そのシュウ酸含量の低下は 30%程度であり、品種間におけるシュウ酸含量の違いの範囲に埋もれかねない。そのためにもシュウ酸含量が低い品種における当該遺伝子の変異導入が求められる。また、形質転換系の各過程における条件検討の結果、発根および形質転換に課題を残した。発根においてはオーキシンの種類・濃度の検討、形質転換については、アグロバクテリウム系統・至適 OD 値・アグロバクテリウム除去過程・抗生物質濃度などの検討が必要である。

10. 公表した成果一覧

特になし

ただし、本申請課題の続きを推進するため、科研費（挑戦的萌芽研究）に申請中。

2020年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト 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を利用したコムギの高温ストレス耐性に関わる最適な 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・高温耐性評価・DNA マーカー開発
研究分担者	中村 和弘	農研機構 九州沖縄農業研究センター グループ長	研究総括・選抜効果の検証
	中田 克	農研機構 九州沖縄農業研究センター 上級研究員	高温耐性評価・高温耐性系統の選 抜・マーカー多型評価
	平 将人	農研機構 九州沖縄農業研究センター 主任研究員	高温耐性評価・高温耐性系統の選 抜・マーカー多型評価
	谷中 美貴子	農研機構 九州沖縄農業研究センター 上級研究員	高温耐性評価・高温耐性系統の選 抜・マーカー多型評価

3. 研究期間

2020年6月9日～2021年3月31日

4. 研究の背景（当初）

コムギは世界の主要作物の一つであるが、今後予測されている地球温暖化に伴う高温ストレスの増加は、世界のコムギ生産にとって大きな脅威となっている。コムギでは、特に開花後の登熟期間の高温条件が収量と品質に悪影響を及ぼすことが多くの研究により報告されており、平均気温が 1℃上昇するごとに、登熟期間は 2.8 日、粒数は 4%、粒重は 5%、収量は 3～4%減少することが報告されている (Nishio et al. 2013 他)。また、Asseng et al. (2015 Nature Climate Change) は、マルチモデルアンサンブル法を用いて、地球全体の平均気温が 1℃上昇するごとに世界全体のコムギ生産量は約 6%減少すると報告している。このように、今後予測される地球温暖化に伴う気温上昇によるコムギの減収被害を防ぐためには、高温ストレス耐性が優れるコムギの遺伝資源および、それに関係する高温耐性に関わる遺伝子の同定が必要である。

5. 研究目的

遺伝資源の利用は育種の基礎であり、コムギとその近縁種の全体的な遺伝的多様性を網羅するコアコレクションから育種に望ましい形質を見つけることは重要である。また、既に普及しているコムギ品種や今後品種になる可能性の高い育成系統の高温耐性を評価し、さらに高温耐性を増強させるために必要な遺伝子を解明する必要がある。そこで本研究では、既に次世代シーケンサー等の解析により遺伝的な多様性が解析されている日本のコムギコアコレクションを用いてコムギの高温耐性の遺伝的要因を解明し、高温耐性に優れる有用な品種および DNA マーカーを選抜して、今後の育種資源として活用することを目的とする。

日本国内において北海道に次ぐ重要なコムギ産地である九州地方は、西南暖地に位置しているため日本のコムギ産地の中では最も平均気温が高く、コムギの高温耐性の向上は喫緊の課題である。そこで、コムギコアコレクションについて既に研究蓄積のある東京農業大学と品種開発で多くの成果を挙げている九州沖縄農業研究センターが共同して研究を行うことにより、高温耐性品種開発につながる実用的な成果を短時間に挙げることを目指す。

6. 研究（実験）方法

1) 西南暖地におけるコムギコアコレクションの高温耐性評価（九州沖縄農業研究センター）

本研究には、農研機構・農業生物資源研究所ジーンバンクの日本のコムギコアコレクション(96 品種)を用いる。その内訳は、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、九州沖縄農業研究センター（福岡県筑後市）において、コムギの開花期後に側面ビニールによって概ね 1～2℃の気温の上昇条件を処理可能な大型のビニールハウスを用いて、高温処理条件の栽培試験を行う。得られた高温処理後の収穫物について収量構成要素（子実重、千粒重等）の詳細な調査を行う。なお、九州沖縄農業研究センターにおけるコムギコアコレクションの高温処理試験は 2016 年から開始されており、既に 4 年間の研究蓄積がある。

2) DNA マーカーを用いた多型分析および最適な高温耐性選抜用 DNA マーカーの開発（東京農業大学）

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解析等の先行研究の蓄積のある東京農業大学において、コムギの高温処理試験から得られた収量構成要素や生育データについて、ゲノムワイドアソシエーション解析を行い、コムギの高温耐性に関わるゲノム領域を特定する。また得られたゲノム領域について、PCR 法等で簡便に遺伝子型を見分けることのできる DNA マーカーを開発する。さらに、神奈川県厚木市においてもコムギコアコレクションの高温処理試験を実施し、生育調査および収量構成要素の詳細な調査を行う。九州地方と関東地方におけるコムギの高温条件に対する反応の違いを解析し、最も有効と考えられる高温耐性の遺伝子の効果について解析する。

3) DNA マーカーを用いたコムギ品種および育成系統の評価と選抜（九州沖縄農業研究センター）

東京農業大学において開発するコムギの高温耐性に関わる DNA マーカーの多型について、九州地方の普及品種および今後品種になる可能性のある育成系統の遺伝子型を解析する。この遺伝子型の結果と

生産力検定試験や特性検定の結果と併せて解析することにより、高温耐性の DNA マーカーの効果を検証する。また、気象条件とコムギの収量の関係についての蓄積のある東京農業大学の協力により、高温耐性と気象に対する生育の反応の差異を解析し、コムギの高温耐性を効率よく発現させるための栽培条件を解析する。

4) 研究成果の社会実装（九州沖縄農業研究センター・東京農業大学）

本研究から得られる最適な高温耐性の選抜用 DNA マーカーを用いた連続戻し交配技術により、高温ストレスの被害に遭うリスクの高い西南暖地のコムギ品種に必要な抵抗性遺伝子を速やかに導入する。また、最適な高温耐性の DNA マーカー選抜と、連続戻し交配技術のメリットを最大限活かすことができれば、日本各地の主要なコムギ品種に対して連続戻し交配を実施し、イネいもち病や縞葉枯れ病に対する抵抗性品種の BL シリーズや SL シリーズと同様に、迅速な実用品種の育成が可能になる。

7. 研究成果

コムギコアコレクション 96 品種を九州沖縄農業研究センター（福岡県筑後市）および東京農業大学厚木キャンパス（神奈川県厚木市）においてそれぞれ対照区および高温処理区を各 2 反復ずつ設けて栽培した。試験区は 1 区当たり畦幅 60cm、畦長 60cm とし、各品種 10 粒ずつ播種した。筑後市では高温処理区には屋根ビニールと側面ビニールを設け、対照区には屋根ビニールのみを設けた。各処理区のビニールハウス 1 棟の大きさは幅：約 6m、奥行き：約 40m とした（図 1）。厚木市の高温処理は、出穂後にビニールハウス（ダイムハウス 5 坪用（幅 2.2m、奥行き 7m、第一ビニール株式会社）を設置し、高温処理試験を行った（図 1）。高温処理試験中の各処理区における気温は、おんどとり TR-51i（株式会社ティアンドデイ）を用いて測定した。気温は、各日の 6～18 時の間に測定された気温の平均を各日の日中平均気温として算出した。

高温処理区



対照区





図 1. コムギコアコレクションの高温処理試験（上段：九州農研（筑後市）、下段：東京農大（厚木市））

それぞれの試験区について、筑後市では子実重、歩留率、千粒重を、厚木市では子実重、歩留率、千粒重、出穂期、成熟期、登熟日数を調査した。歩留率はコムギの製品流通規格である粒厚 2.2 mm 以上の子実重を縦目篩でふるい計測し、全子実に対する比率を算出した。形質調査は「作物調査基準」（日本作物学会編）に従った。対照区と比較して、筑後市の高温処理区の平均気温は 2019 年を除いて有意に上昇し、厚木市の高温処理区の平均気温は 2019 年と 2016 年を除いて有意に上昇した（表 1）。

表 1 コムギコアコレクションの高温処理試験における対照区と高温区の平均気温の比較

播種年	九州農研（筑後市）		東京農大（厚木市）	
	対照区 (°C)	高温処理区 (°C)	対照区 (°C)	高温処理区 (°C)
2016	21.1	24.9 **	22.7	23.9
2017	21.5	23.9 **	22.7	24.6 *
2018	25.5	28.4 **	21.4	23.3 *
2019	25.2	25.1	22.6	24.1

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

コムギコアコレクション 96 品種から各品種のゲノム DNA を DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN 社) を用いて抽出し、品質基準を満たした DNA サンプルを用いて、GRAS-Di 技術によるジェノタイピング解析（イルミナ株式会社の HiSeq 2500 を用いて、リード長 100bp/read : 1 lane のペアエンド解析）を行った。96 品種のシーケンス結果を、コムギの遺伝学標準品種である Chinese Spring のリファレンスゲノム Ver. 2.0 (International Wheat Genome Sequencing Consortium : IWGSC 2019) へのマッピングおよびジェノタイピングを行った。GRAS-Di 技術によるシーケンスからジェノタイピングはユーロフィンジェノミクス株式会社に委託した。ジェノタイピングの結果、コムギコアコレクションについて、サンプル間で増幅の違いが見られたマーカーが 32,273 マーカー得られた。得られたマーカーについてクオリティー（マーカーの信頼度：A～E）や座乗染色体等のフィルタリングを行った結果、クオリティーが D（使用可）以上のマーカーが 3,358 マーカー得られた。TASSEL のフィルタリング機能により、ゲノムワイド

関連解析には 1,602 マーカーを用いた。形質調査およびジェノタイプングの結果を基に、ソフトウェア TASSEL Version 5.0 を用いて、各環境における日本のコムギコアコレクションの収量構成要素についてゲノムワイド関連解析を行った。解析は TASSEL の Workflow 機能に従って行い、解析条件は GLM(PCA) で、パラメータは初期設定で行った。

千粒重以外の収量構成要素は安定したゲノムワイド関連解析結果が得られなかつたため、TASSEL により出力された筑後市における千粒重に関するマンハッタンプロットを図 3 に示した。マンハッタンプロットとは、ゲノムワイド関連解析で得られた各 SNP あるいは DNA マーカーの表現型との関連解析の P 値（帰無仮説の正しさ）や効果量（表現型への影響の大きさ）を縦軸に、SNP あるいは DNA マーカーの座している染色体および位置を横軸にとったものである。各形質について、Log₁₀ (P-Value) が 3.5 以上を示し、厚木市および筑後市においてそれぞれ 2 ヶ年以上で同じ染色体上のできるだけ近いポジションに検出された一塩基多型を抽出した。

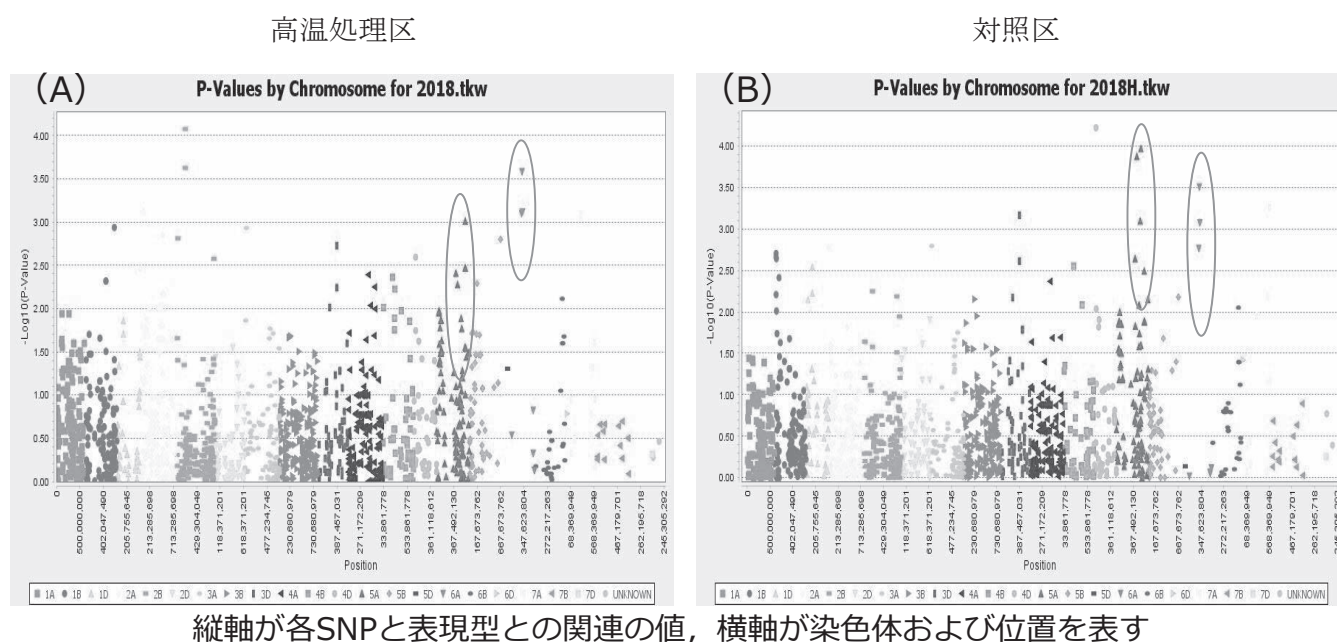


図 2. 千粒重に関するゲノムワイド関連解析結果（筑後市）

千粒重に関係する一塩基多型は、染色体 5A (AMP0055292) および 6A (AMP0078229) 上に安定して検出された（図 2、表 1）。染色体 5A 上の一塩基多型は非 Chinese Spring 型（以下 N 型、コアコレクション中 39 系統）の千粒重が有意に増加し、染色体 6A 上の一塩基多型は Chinese Spring 型（以下 C 型、コアコレクション中 31 系統）の千粒重が有意に増加した。両方の一塩基多型が千粒重を増加する遺伝子型をもつものはコアコレクション中 19 系統であった。これらの一塩基多型は、筑後市はほぼすべての環境で検出されたが、厚木市はいくつかの環境で検出されなかつた。染色体 2B 上の千粒重に関係する一塩基多型は品種系統数に偏りが見られたが（C 型：5 品種、N 型：91 品種）、筑後市、厚木市とも約半数の環境において同一の位置に検出された（データ省略）。

表 1 筑後市において検出された千粒重に関する染色体 5A および 6A 上の一塩基多型

播種年	場所	形質	染色体	Position	Log10	Position	Log10
					(P-Value)	高温処理区	(P-Value)
				対照区	対照区	高温処理区	高温処理区
2016	筑後	千粒重	5A	614,608,055	3,740	614,608,055	3,315
2017	筑後	千粒重	5A	614,608,055	4,333	614,608,055	3,012
2018	筑後	千粒重	5A	614,608,055	3,011	540,229,029	3,968
2019	筑後	千粒重	5A	614,608,055	2,650	614,608,055	1,670
2016	筑後	千粒重	6A	310,033,189	3,664	548,467,560	2,643
2017	筑後	千粒重	6A	310,033,189	2,909	310,033,189	5,441
2018	筑後	千粒重	6A	310,033,189	3,504	310,033,189	3,581
2019	筑後	千粒重	6A	310,033,189	2,335	310,033,189	3,500

コムギの千粒重の増加に関する染色体 5A および 6A 上の一塩基多型の組合せによりコアコレクション 96 品種を 4 つのグループに分類し、筑後市および厚木市における平均千粒重の分布を示した。染色体 2B 上のマーカー多型はサンプル数に偏りが見られたため、グループ分けを行わなかった。筑後市ではグループ 1 が、厚木市ではグループ 2 が最も高い平均千粒重を示した。また筑後市、厚木市ともグループ 1,2,3 はグループ 4 に対して有意に高い平均千粒重を示した (図 3)。

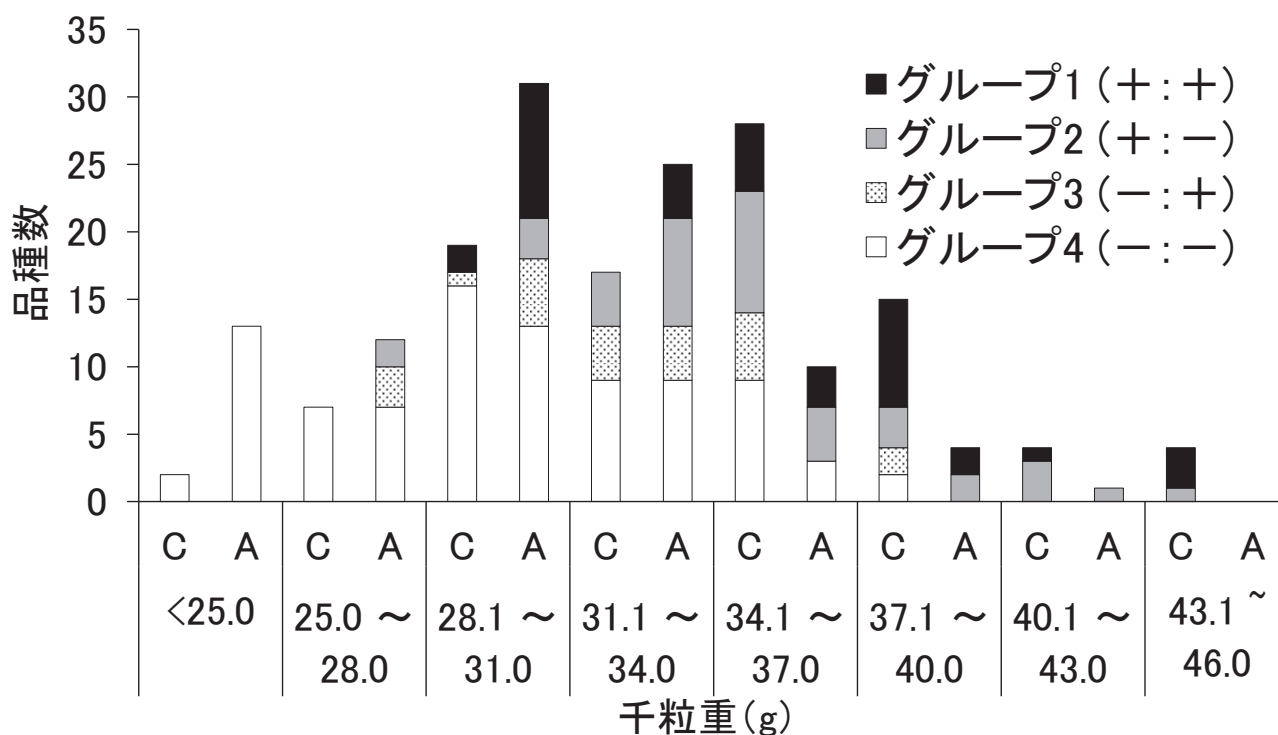


図 3 コムギの千粒重に関する染色体 5A および 6A 上の一塩基多型(SNPs)で分類したコムギコアコレクションの平均千粒重の分布

小島ら (2017) によるコムギコアコレクションの地域区分を基に、千粒重に関する染色体 5A および 6A 上の一塩基多型で分類した各グループにおけるの分布を図 4 に示した。グループ 1 には、コアコレクションにおける北海道由来の 17 品種のうち 9 品種、関東由来の 23 品種のうち 5 品種が含まれ、九州由来の品種は含まれなかった。Elbashir et al. (2017) が高温耐性に優れる多重合成コムギ集団 (MSD) 作出の戻し交雑親に用いた農林 61 号はグループ 4 に含まれていた。福永・稲垣 (1985) による日本のコムギ品種の系譜を参照したところ、グループ 1 の両親がグループ 4 と外国品種 (例: Martin / 資選 1 号 → 小麦農林 39 号; Australia 13 / 伊賀筑後 → 鴻巣 25 号) という例が複数見られた。また北海道由来の品種は、北栄とムカコムギを除いて 1930 年以前に成立していた、恐らく海外導入の遺伝的背景とみられる品種が多く見られた。そのため、本研究で検出されたコムギ千粒重に関わる一塩基多型は海外品種から導入された可能性が高いと考えられた。

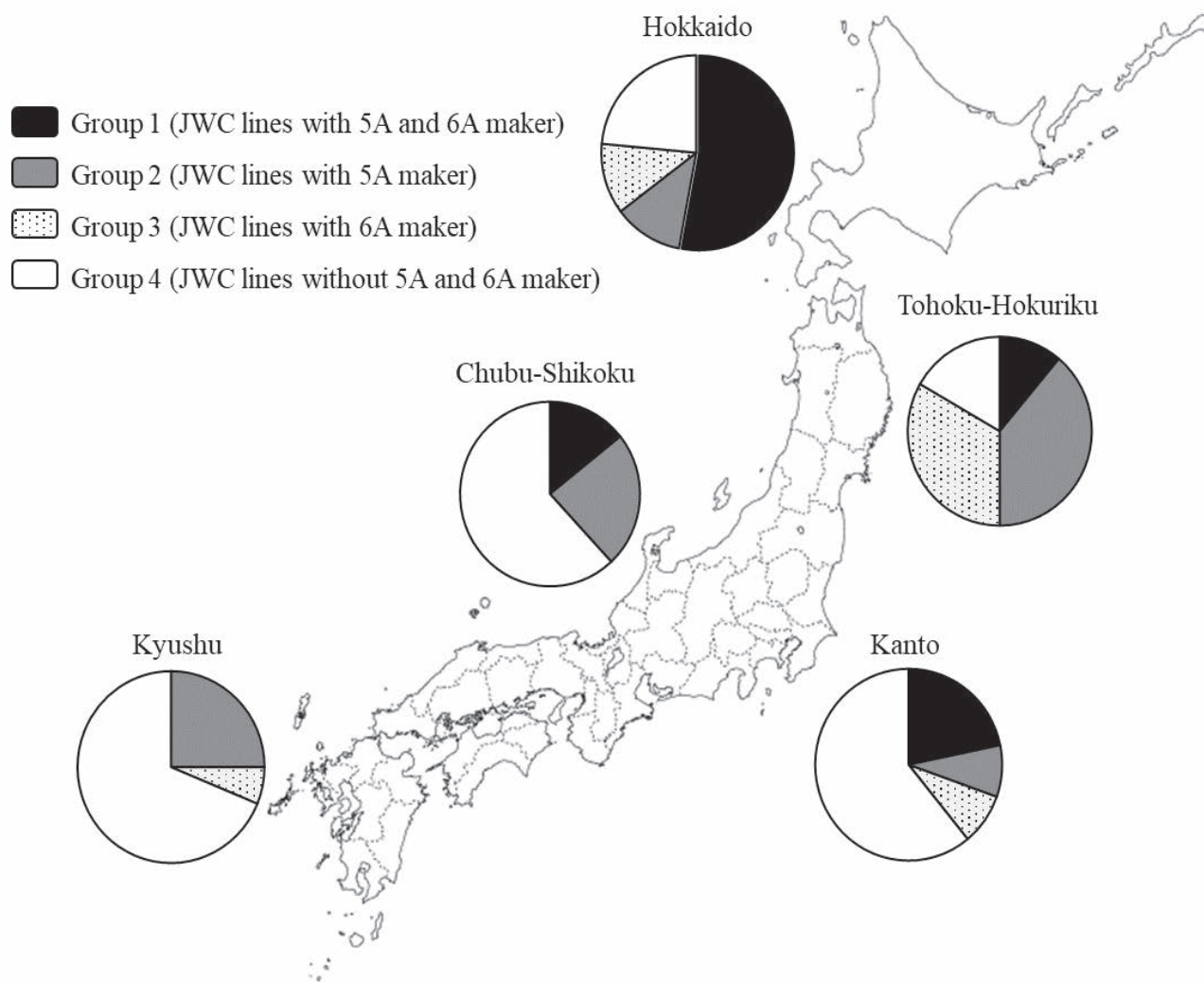


図 4 千粒重に関する 2 つの一塩基多型 (SNPs) で分類したコムギコアコレクションの地域別の分布

千粒重に関する一塩基多型が染色体 5A (*AMP0055292*) および 6A (*AMP0078229*) を簡便に判別するための PCR 増幅産物の制限酵素処理により配列差を検出する Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) マーカーを作成した。まず染色体 6A の一塩基多型について、Chinese Spring のリファレンスゲノム Ver. 2.0 (International Wheat Genome Sequencing Consortium : IWGSC 2019) を基に、プライマー (6TKWC-1F: TAGGTGGCATGTGCTTTAG, 6TKWC-1R: GAGCAAGGCCGATTTCTAAG) を設計した。

GoTaq (プロメガ社)、アニーリング温度 60°Cにて PCR 反応を行った後、制限酵素 *FokI* で 37°C、1 時間処理した結果、制限酵素により切断された CS 型(C)と切断されない非 CS 型(N)を判別することができた(図 5)。本 CAPS マーカー名は 6ATKWC とした。現在、染色体 5A の一塩基多型を判別する CAPS マーカーを現在作成中である。

M

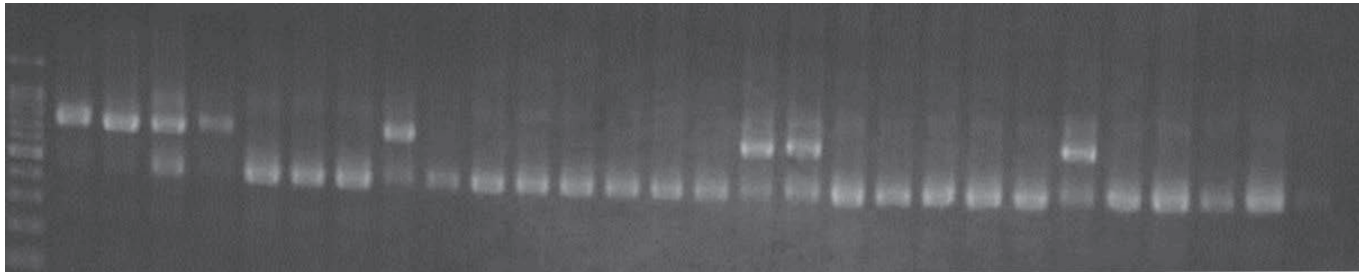


図 5 コムギ千粒重に関わる染色体 6A 上の一塩基多型 (*AMP0078229*) を判別する CAPS マーカー 6ATKWC

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

今後、農研機構九州沖縄農業研究センターの育成系統や倍加半数体系統を中心に本 CAPS マーカーによる選抜効果の検証を試みる。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今回の研究では、千粒重以外の収量構成要素や、高温区の対照区における千粒重の差異については、安定して検出される一塩基多型がみられなかった。実際の温暖化条件を再現できるような、安定した高温耐性の形質評価法の改良が必要と考えられる。

10. 公表した成果一覧

日本育種学会または日本作物学会等への論文投稿準備中

2020年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト 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)
冬季および高冷地での土壌の低温環境が緑肥分解および養分可給化に与える影響	1,000,000 円

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	中塚 博子	農学部 農学科 ・助教	低温環境と土壌の養分可給化との関係
研究分担者	唐澤 敏彦	農研機構 中央農業研究センター 土壌肥料研究領域 土壌生物グループ グループ長	低温環境と土壌の生物特性との関係

3. 研究期間

2020年6月9日～2021年3月31日

4. 研究の背景（当初）

圃場へ投入する有機物には、土づくりと肥料、両方の効果があり、土壌劣化抑制および土壌肥沃度向上を目的とした有機物施用は農業政策としても推奨されている(Lal, 2018)。中でも緑肥は、輸送や散布のコストが少なく、化学肥料の代替等としての導入が期待されている。2019 年度には、農水省委託プロジェクトの成果を農研機構が中心にまとめた「緑肥利用マニュアルー土づくりと減肥を目指してー」が公開された(有機質資材コンソーシアム, 2019)。一方、現場の有機農家から、冬季や高冷地域では有機物を施用しても肥効が現れにくく、低温時期に有機物を肥料として効かせる方法を知りたいという声が挙がるなど、低温時期での有機質資材の利用に関する研究が求められている。従って、緑肥をより多くの地域や作型（緑肥や主作物の栽培の時期）に普及させるには、低温環境での緑肥の分解と肥料効果を調べることが必要不可欠である。

土づくりと関係が深い土壌有機物の蓄積、肥料効果と関係がある養分の無機化は、いずれも土壌微生物の代謝能力に依存している。そのため、緑肥に含まれる養分の可給化には、投入有機物の種類以外にも、地温などの環境因子が重要となる。地温が低い場合は、高い場合と比較して有機物の分解が遅くなるため、緑肥残渣中の有機物からの窒素放出量も少ないことが考えられる。一方、カリウムは、植物体中でカリウムイオンとして存在し（松中, 2018）、微生物の代謝を介さずに肥料成分として放出されるため、低温による影響を受けにくいなど、養分ごとに放出の温度反応が異なる可能性もある。しかし、低

温環境での緑肥の分解による植物必須元素の放出量を明らかにした研究はほとんどない。

5. 研究目的

本研究の目的は、低温環境下における土壌微生物活性と植物必須元素である窒素およびカリウムの供給量を明らかにすることである。本研究では、目的達成のため、土壌に緑肥残渣を投入し、一定期間培養後の土壌微生物と窒素およびカリウムの放出量を調べる培養実験を行う。土壌は、国内畑地面積のうち約80%を占める黒ボク土を使用する。採取場所は、気候による土壌微生物群集構造の違いを考え、冷涼な朝霧高原と温暖な農研機構中央農業研究センターの緑肥圃場とする。

6. 研究（実験）方法

1) 低温環境下での緑肥添加培養実験による土壌微生物の推移

【培養実験】現地気候の異なる黒ボク土2種類（朝霧：朝霧高原，つくば：中央農業研究センター）を用い、1 cm程度に細断した緑肥作物残渣（エンバク）を投入し、5段階の温度環境下（6, 12, 18, 24, 30℃）で、8週間培養して土壌生物性の変化（0, 4, 8週間後）を調査した。培養中の水分含量は、現地水分含量を考慮し、朝霧では最大容水量の70%、つくばでは最大容水量の60%で培養した。培養土壌は、朝霧は2020年7月5日と8月1日、つくばは2020年7月7日に採取し、2 mmに篩った生土を供試した。培養は乾土重量40gあたりにエンバクを0.6g投入した。

【測定項目】土壌微生物量と窒素循環に関わる土壌酵素活性を把握するため、微生物バイオマス量（ATP測定法）、プロテアーゼ活性を測定した。

2) 低温環境下での緑肥培養による窒素およびカリウムの放出

【培養実験】調査1と同様の培養土壌試料を使用して、窒素およびカリウムの放出量を調査した。

【測定項目】無機態窒素含量（硝酸態窒素およびアンモニア態窒素）の測定は、生土5gに2Mの塩化カリウム25mlを入れて120rpmで60分振とう抽出後、オートアナライザー（QuAAtro2-HR, BL-TEC）で測定した。交換性カリウム量は、5gの風乾土に1M酢酸アンモニウム25mlを入れて120rpmで30分間振とう抽出を3回行い、1M酢酸アンモニウムで100mlとした溶液を希釈し、原子吸光光度計（AA-7000, SHIMAZU）で測定した。その他、土壌pH（イオン電極法）、土壌とエンバクの全炭素、全窒素量（乾式燃焼法：JMA1000, ジェイ・サイエンス・ラボ）、培養土壌のCEC（セミマイクロ蒸留法）と交換性陽イオン（Ca, Mg, Na：バッチ法）を測定した（表1）。また、エンバクの化学組成を委託分析した（表2）。

3) 現地地温調査

採取場所（朝霧高原および中央農業研究センター）の地温の経時変化を調べるため、地温計（おんどとり Jr. CTD-TR-51i, クリマテック）を地中5 cmに埋設し、数か月おきにデータコレクター（TR-57DCi, クリマテック）でデータを回収した。

4) 低温環境下での微生物特性および肥料放出の関係解析と肥料代替効果の算出

生物性因子（微生物バイオマス量、プロテアーゼ活性）、肥料成分因子（硝酸態窒素量、交換性カリウム量）と温度との相関関係を解析し、温度によって制限される因子と制限されない因子を明らかにした。

さらに、予め測定した各地点の地温と仮比重および本実験結果を照らし合わせ、現地での低温環境時の肥料成分の供給量を算出し、低温時期の緑肥作物の肥料代替効果を推定した。

表 1. 培養 0 週間目の土壌化学性

0wk		交換性陽イオン (cmol _c kg ⁻¹)			CEC (cmol _c kg ⁻¹)	塩基飽和度 (%)	全炭素量 (g kg ⁻¹)	全窒素量 (g kg ⁻¹)
		Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺				
朝霧	エンバク	1.04 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.27 ± 0.03	59.29 ± 2.91	3.64	—	—
	なし	0.95 ± 0.01	0.26 ± 0.004	0.04 ± 0.004	51.87 ± 1.19	2.72	215.6	11.07
つくば	エンバク	8.81 ± 0.06	1.38 ± 0.01	0.21 ± 0.01	28.56 ± 0.14	39.46	—	—
	なし	8.95 ± 0.04	1.37 ± 0.01	0.002 ± 0.002	28.88 ± 0.87	37.46	73.8	4.69

表 2. エンバクの化学組成

	水分含量 (乾物中%)	全炭素量 (乾物中%)	全窒素量 (乾物中%)	C/N比	アンモニア態N (乾物中%)	硝酸態N (乾物中%)	Ca (乾物中%)	P (乾物中%)	Mg (乾物中%)	K (乾物中%)	Na (乾物中%)
エンバク	15.39	40.7	1.21	33.7	0.017	0.035	0.397	0.147	0.150	1.630	0.650

7. 研究成果

1) 低温環境下での緑肥添加培養実験による土壌微生物の推移

プロテアーゼ活性および ATP 測定による微生物バイオマス量 (ATP 値) の結果を図 1、2 に示した。プロテアーゼ活性は、土壌および培養期間に関わらず、対照区よりもエンバク投入区で高い値を示した。さらに、培養 8 週目では、朝霧およびつくば土壌ともに低温帯でプロテアーゼ活性が高い傾向を示した。低温帯でプロテアーゼ活性が高く、高温帯で低くなった要因について、①高温帯では土壌酵素の生成量よりも分解量が上回ったのに対し、低温帯では土壌酵素の分解量が生成量よりも低下したため、酵素が保存され、活性が高くなったことと、②低温環境において土壌酵素が多く生成されたことの 2 点が考えられた。地点間では、朝霧 > つくばとなったが、その理由は、使用した土壌の有機物含量と有機物形態、土地利用 (朝霧: 休耕畑、つくば: 耕作畑)、地点の気候 (朝霧: 冷涼、つくば: 温暖)、土壌微生物量と群集構造の違いによるものと考えられた。

ATP 値は、土壌や培養期間に関わらず、対照区よりもエンバク投入区で高い値を示し、特につくば土壌でその傾向は顕著であった。ATP 値は、朝霧土壌でエンバク投入区 8 週間目の 30°C、つくば土壌でエンバク投入区 8 週間目の 18°C で高い傾向を示したが、温度による違いはあまり認められなかった。

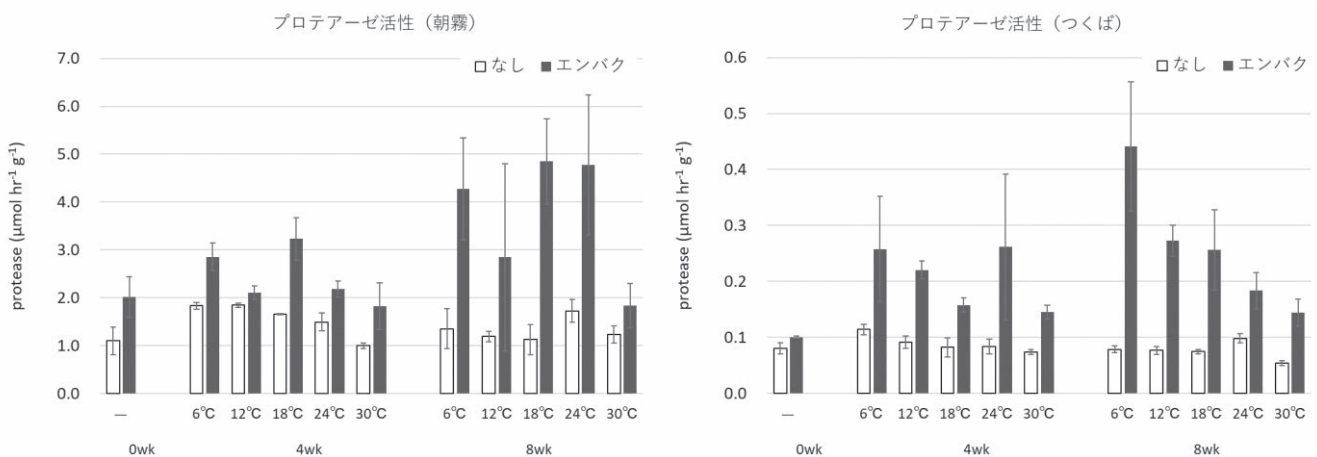


図 1. 培養期間におけるプロテアーゼ活性の推移

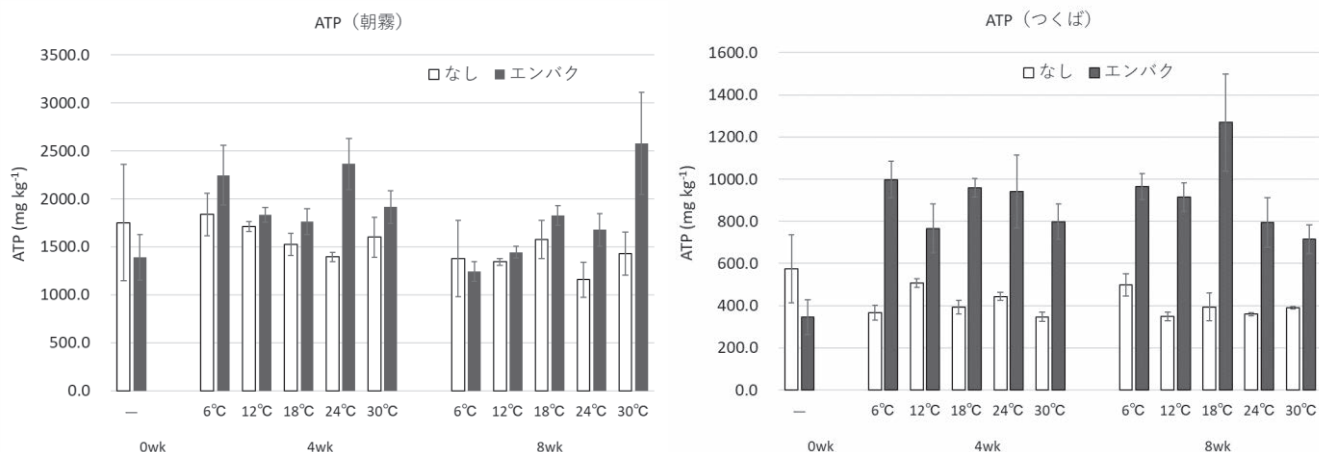


図 2. 培養期間における ATP 値の推移

2) 低温環境下での緑肥培養実験による窒素およびカリウムの放出

各培養温度における硝酸態窒素および交換性カリウムの推移を図 3、4 に示した。

硝酸態窒素の推移について、エンバクを投入しない対照区では、地点および培養期間に関わらず、温度が高くなるほど硝酸態窒素濃度が高くなる傾向を示した。一方、エンバク投入区では、培養期間により異なる傾向を示した。培養 4 週間目では、朝霧およびつくばともに温度の違いによる硝酸態窒素濃度の違いは認められなかった。一方、培養 8 週間目では、温度による硝酸態窒素濃度に違いが認められ、朝霧では 30°C、つくばでは 24°C と 30°C で他の温度帯よりも硝酸態窒素濃度が高くなった。

上記の結果から、窒素の無機化機構は、有機物の形態で温度依存性が変化することが示唆される。すなわち、新鮮有機物（易分解性有機物）が多く存在する培養初期は、温度に依存することなく窒素の無機化が進行するが、培養後期では、易分解性有機物の存在量が減少し、腐植化が進行した難分解性の有機物の割合が多くなると考えられる。難分解性の有機物の無機化機構は温度に依存し、従って、培養 8 週間目では、易分解性有機物が消費されると、低温帯では窒素の無機化が進行しないが、高温帯ではエンバク残渣投入により増加した難分解性有機物がさらに分解され、対照区よりも硝酸態窒素の放出量が多くなったことが考えられた。また、土壌によって、窒素放出量に差が生じた要因は、使用した培養土壌の有機物の形態や量が異なったためと考えられる。朝霧高原は、1 年を通じて冷温帯であり、夏季も 30°C を超える地温になることは日中のわずかな時間帯のみである（図 5）。従って、有機物の腐植化はあまり進行しておらず、ある程度分解された易分解性有機物が比較的多く存在していたため、対照区でも窒素無機化量が高くなったことが考えられる。一方、つくばでは、有機物含量は比較的少なく、また存在する有機物の形態も腐植化し安定化した有機物であることが考えられる。従って、培養 8 週間目で対照区よりもエンバク投入区で窒素の放出量が高くなったと考えられた。

また、各土壌のエンバク区において、窒素の放出量を経時的にみると、4 週間目では朝霧（6、12°C）およびつくば（6~24°C）ともに低温帯で対照区よりも硝酸態窒素が多くなり、エンバク投入により窒素が無機化されていると考えられる。一方、8 週間目では、つくばの高温帯（24、30°C）のみ 4 週間目のエンバク区と 8 週間目の対照区よりも値が高くなり、窒素の無機化が認められるが、朝霧およびつくば低温帯（6~12°C）では、4 週間目エンバク区よりも硝酸態窒素が減少した。これは、一度放出された窒素が再び微生物に取り込まれ、窒素の有機化が起こっていることが考えられた。窒素の無機化および有機化と温度および有機物の質との関係については、短期間での培養や有機物の質を変化させた条件での硝酸態窒素と微生物バイオマス窒素の推移を観察する等、さらに詳細な研究を進める必要が

ある。

交換性カリウムについては、両土壌ともに、培養温度や培養期間に関わらずエンバク投入区>対照区となった。さらに、エンバク投入区では、培養期間を通してカリウム放出量は、朝霧で $0.45\sim 0.53\text{ cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ 、つくばで $0.86\sim 0.95\text{ cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ と一定の値で推移した。これらの結果より、投入残渣のカリウム放出は温度に依存しないことが明らかとなった。また、エンバク区と対照区の差より、朝霧では約 $0.3\text{ cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ 、つくばでは約 $0.4\text{ cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ がエンバク残渣からの放出であると推測された。

pH(H₂O)の培養期間中の推移を表3に示した。対照区と比較してエンバク区で土壌pHが酸性となった。また、つくば土壌よりも朝霧土壌で土壌が酸性となった。硝酸態窒素の生成が土壌を酸性化させた要因のひとつと考えられる。

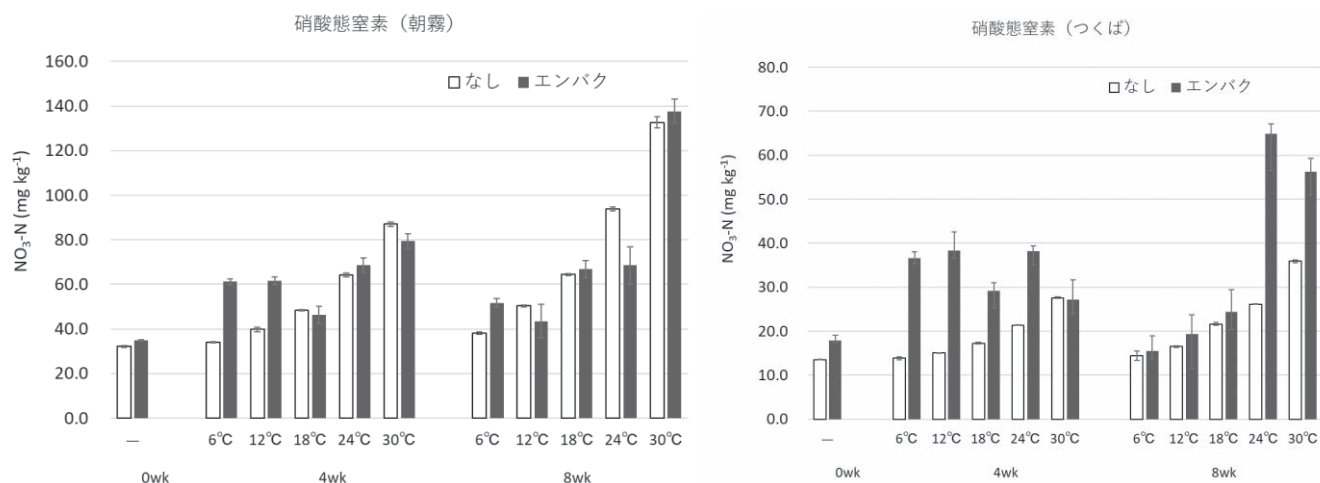


図3. 培養期間における硝酸態窒素の推移

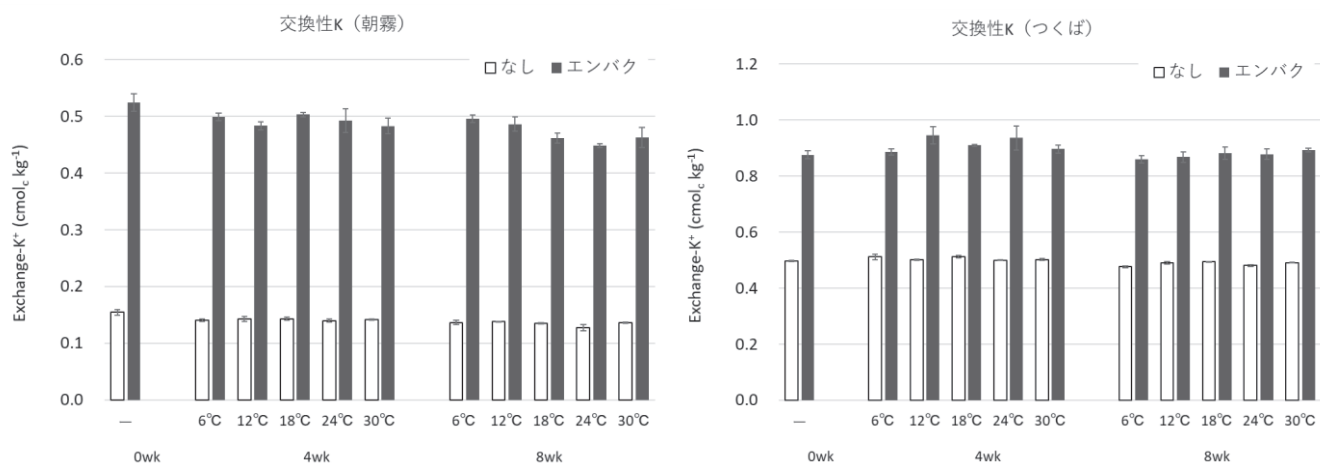


図4. 培養期間における交換性カリウムの推移

表3. 培養期間における土壌 pH(H₂O) の推移

	0wk		4wk		8wk	
	なし	エンバク	なし	エンバク	なし	エンバク
朝霧	—	4.85	4.79			
6°C			4.81	4.69	4.79	4.77
12°C			4.76	4.68	4.72	4.74
18°C			4.71	4.71	4.66	4.70
24°C			4.64	4.66	4.56	4.61
30°C			4.55	4.62	4.42	4.50
つくば	—	6.09	5.79			
6°C			6.14	5.72	6.01	5.70
12°C			6.10	5.79	5.99	5.75
18°C			6.04	5.80	5.96	5.75
24°C			6.09	5.77	5.92	5.68
30°C			5.98	5.79	5.83	5.62

3) 現地地温調査

朝霧高原の2020年7月～10月の地温（深度5cm）の推移を図5に示した。

7月の地温は、最大値28℃、最小値18.5℃、8月の地温は、最大値32℃、最小値20℃、9月の地温は、最大値29.5℃、最小値16℃、10月の地温は、最大値23℃、最小値9℃となった。また、夏季（7月～8月）の平均地温は22～26℃、7月～10月の平均地温は21℃となった。

つくばの2020年10月～2021年1月の地温（5cm）は、現在計測中であるため、農研機構 農業環境変動研究センターの総合気象観測データを参照した。つくばの2020年10月の平均地温は17.5℃、11月は12.4℃、12月は5.5℃、2021年1月は3.1℃であった。

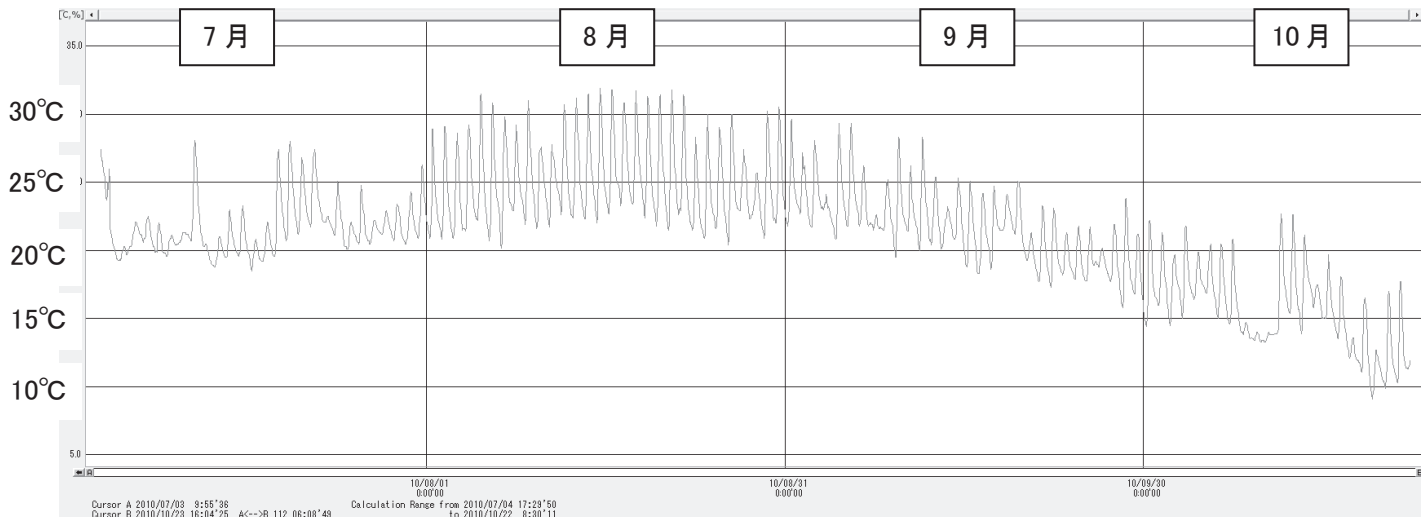


図5. 朝霧高原土壌（深度5cm）の地温の推移（期間：2020年7月3日～2020年10月23日）

4) 低温環境での微生物特性および肥料成分放出の関係解析と肥料代替効果の算出

温度環境と各因子の相関関係について、4週間と8週間目を合わせた対照区の硝酸態窒素で $r=0.516$ 、8週間目のエンバク投入区の硝酸態窒素で $r=0.671$ の正の相関が得られた。その他の変数では、温度との間で有意な相関関係は認められなかった。

朝霧土壌の仮比重 0.44 g cm^{-3} 、つくば土壌の仮比重 0.72 g cm^{-3} を用い、本研究で得られた結果より緑肥の肥料代替効果を算出した。本研究結果（結果3）を参照し、朝霧では夏季地温 18°C と 24°C 、つくばでは冬季地温 12°C と 18°C の値を用いて算出した。10a、深さ15cmあたりの硝酸態窒素量は、朝霧では、4週間目 18°C で $3.1 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ 、4週目 24°C および8週目 18°C と 24°C で約 $4.5 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ となった(表4)。つくばでは、4週目 12°C 、 18°C および8週目 12°C 、 18°C で $1.3\sim 2.5 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ となった。これは、エンバク残渣からの無機化窒素に加え、土壌由来の無機化窒素を含めて算出した数値である。従って、窒素の施肥基準として $10 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ の窒素肥料を施用すると仮定すると、朝霧の夏季地温では 24°C では1ヵ月、 18°C では2ヵ月の分解期間で約45%、つくばの冬季地温（ $12\sim 18^\circ\text{C}$ ）では1ヵ月の分解期間で20～25%の窒素減肥が、10aあたりのエンバク残渣投入量（乾燥重量） $455 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ （朝霧）及び $1.1 \text{ t } 10\text{a}^{-1}$ （つくば）で可能であると考えられた。

カリウムについて、10aあたりの K_2O は、朝霧エンバク投入区で $13.9\sim 15.6 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ 、つくばエンバク投入区で $43.6\sim 48.0 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ となり、培養前の地力カリウムとの値を差し引くと、朝霧では $9.1\sim 10.8 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ 、つくばでは $18.4\sim 22.8 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ が投入エンバク残渣より放出されることが推定された。さらに、カリウムの放出は温度に関わらず一定量放出されることが分かった。従って、カリウムの施肥基準として

10 kg 10a⁻¹ のカリ肥料を施用すると仮定すると、朝霧およびつくばともに 10 kg 10a⁻¹ 全量のカリ減肥が、10a あたりのエンバク残渣投入量（乾燥重量）455 kg 10a⁻¹（朝霧）及び 1.1 t 10a⁻¹（つくば）で可能であると考えられた。しかし、緑肥によるカリウムの施肥代替効果は、緑肥残渣中のカリウム量に依存しているため、緑肥残渣の質によってカリの肥料代替効果の変動することが留意すべき点である。

以上から、低温環境においても、窒素およびカリウムの放出は確認され、高冷地および冬季においても緑肥の肥料代替効果は期待できることが明らかとなった。

表 4. 各培養日数および温度帯の 10a あたりの硝酸態窒素量

		10aあたりの硝酸態N量 (kg 10a ⁻¹)
朝霧	4wk_18°C	3.1
	4wk_24°C	4.5
	8wk_18°C	4.4
	8wk_24°C	4.5
つくば	4wk_12°C	2.5
	4wk_18°C	1.9
	8wk_12°C	1.3
	8wk_18°C	1.6

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究により、低温環境でも窒素およびカリウムの放出が認められ、緑肥の肥料代替効果が期待できることが明らかとなった。本研究の成果を活かし、朝霧高原におけるススキ資源の活用と朝霧高原有機ダイコン生産における地域ブランドの創出に活用する予定である。さらに、本研究から、土壌や地温に関わらずカリウムの一定の放出量が確認できたことから、他土壌や緑肥の種類・量による代替効果を検討し、「緑肥利用マニュアル—土づくりと減肥を目指して—」を更新して、一般化・普及に本研究データを活用することを検討する。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究から、窒素の無機化機構は、有機物の形態で温度依存性が変化することが示唆された。和穎らの研究 (Wagai et al., 2012, 2013)によると、土壌炭素の分解速度が温度上昇によりどの程度増加するかは、土壌炭素の分子構造（＝土壌炭素の質）で変化することが報告されている。本研究の結果から、土壌炭素の分解だけではなく、土壌窒素の無機化も有機物の質により変化し、さらに窒素無機化の温度依存性は土壌中の有機物の質で異なることが推測された。これは、各有機物の無機化過程に関わる要因（土壌酵素、土壌微生物群集）が異なるためと予測される。本研究で得られた仮説の検証のため、短期間での培養や多様な有機物資材による培養試験を行い、それら試料を用いて硝酸態窒素放出および微生物バイオマス窒素の推移を観察するとともに、有機物の質を決定する分析（NMR、固体 ¹³C 核磁気共鳴法）や土壌微生物の多様性解析を行うことで、窒素無機化に関与する微生物群や土壌酵素の温度依存性と土壌の有機物形態の関係について、さらに研究を進める予定である。この基礎研究により、冬季においても窒素の肥料代替効果の高い緑肥および有機質資材を検討できる他、地球温暖化における陸域生態系での

窒素循環や温度変化が環境保全地域の生態系へ与える影響に関する新知見が得られることが期待される。

10. 公表した成果一覧

学会発表等

- 1) 中塚博子・唐澤敏彦（2021）、冬季および高冷地での土壌の低温環境が緑肥分解および養分可給化に与える影響、口頭発表 6-2-1、日本土壌肥料学会 2021年度北海道大会
- 2) 唐澤敏彦・中塚博子（2021）、土壌の採取地や前培養の温度が土壌酵素活性の温度依存性に及ぼす影響、ポスター発表 P6-2-8、日本土壌肥料学会 2021年度北海道大会

2020年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 相馬 幸作

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
新たな野生動物個体数調節手法としての不妊化ワクチンの開発	990,000

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	相馬 幸作	生物産業学部 北方圏農学科・教授	エゾシカ飼養試験の統括
研究分担者	野口 純子	農研機構 生物機能利用部門・主席研究員	抗原提供・抗体価等測定
	平山 博樹	生物産業学部 北方圏農学科・教授	繁殖能力評価(親子判定)
	大久保 倫子	生物産業学部 北方圏農学科・助教	エゾシカ飼養管理

3. 研究期間

2020年6月9日～2021年3月31日

4. 研究の背景(当初)

ニホンジカ (*Cervus nippon*) による食害は農作物および牧草地の被害、林業被害や森林植生の変化など多岐に及ぶ。また、ニホンジカはウシ・ブタ同様に偶蹄類で口蹄疫ウイルスに感受性をもつことから、家畜伝染病の蔓延予防の上でも個体数調節が重要である。現在は捕獲がその唯一の手段であるが、高齢化による狩猟者の減少が課題である。また、居住域ではヒトへの危険あるいは住民感情により、鳥獣保護区では他の野生動物への影響から捕獲が困難な場合がある。このように、狩猟や捕殺によらない個体数管理手法についても検討が必要と考えた。アメリカではすでに、生殖機能維持に必要な性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) を抗原とした不妊化ワクチンが実用化されており、オジロジカ (*Odocoileus virginianus*) において発情および妊娠を阻害することが報告されている。このため、ニホンジカにおいても不妊化ワクチンによる対応も有効な手段となると考え、基礎データ集積を中心とした検討を行うこととした。

5. 研究目的

アメリカの不妊化ワクチンには賦活化剤としてマイコバクテリウムワクチンが用いられており、国内で接種することができない。そこで免疫賦活化剤モノフォスフォルリピッド A (MPL) と抗原を組み

合わせた、国内でも実用可能なワクチン組成を探索した。本研究では性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）とその下流の卵胞刺激ホルモン（FSH）をターゲットとした 2 種類の不妊化ワクチンについて、実際の対象動物であるエゾシカ（*C. n. yesoensis*）を用いて効果検証を行った。

6. 研究（実験）方法

①FSH と GnRH を混合した不妊化ワクチンの効果検証

2019年9月にFSHとGnRH各2mgおよびMPL0.1mgを動物用アジュバントと混合した不妊化ワクチン（総液量約2ml）を、本学シカ飼養施設で継代飼養してきたエゾシカ雌1頭に麻酔下で投与した。投与後も繁殖可能な雄個体と同居させ交配試験を行い、行動観察ならびに定期採血を行った。抗体価の測定はELISA法でおこない、発情および妊娠の指標となる血中プロジェステロン（P4）濃度からFSHとGnRH混合ワクチンの効果を評価した。さらに、動物に侵襲を与えずに発情を検出する手法として、糞中P4含有量の測定も試みた。

②FSH と GnRH 連結抗原を用いた不妊化ワクチンの効果検証

2019年に先行して投与した不妊化ワクチンに改良を加え、2020年9月に、農研機構より新たに提供された抗原（FSH+GnRH連結抗原）2mgおよびMPL0.1mgを①と同様に混合したものを、本学シカ飼養施設で飼養するエゾシカ雌3頭に麻酔下で投与した。従来型のワクチンと同様に、投与後の行動観察、採血、抗体価の測定、および血中P4濃度の測定を行った。

7. 研究成果

①FSH と GnRH を混合した不妊化ワクチンの効果検証

先行して2019年9月に不妊化ワクチンを投与した雌1頭の血清を用いて、抗体価および血中P4濃度を測定したところ、ワクチン接種直後の11月には高い抗FSH抗体価および抗GnRH抗体価を示していたが、その後抗体価の低下が確認された。また、血中P4濃度は2020年1月以降高値を示した。

上記の雌について、ワクチン投与直後から糞を採取した。糞中P4の測定を行い、抗体価の上昇と糞中P4含有量の変化を確認した。

その結果、数ヵ月間は発情が抑制されていたが、その後発情が回帰し、妊娠したと考えられた。ワクチン接種後、雄と同居し交配試験を行った結果、不妊化ワクチンを接種したにもかかわらず2020年8月に分娩した。従って、従来型のFSHとGnRHを混合した不妊化ワクチンの効果は限定的であることが明らかとなった。

②FSH と GnRH 連結抗原を用いた不妊化ワクチンの効果検証

従来型のFSHとGnRHを混合した不妊化ワクチンの効果が限定的であったことから、形態を改良した抗原が農研機構から提供された。改良した抗原を用いた不妊化ワクチンを2020年9月に3頭に投与した。3か月後に採取した血清を用いて抗体価および血中P4を測定した。従来型のFSHとGnRHを混合した不妊化ワクチンを投与した雌の抗体価と比較すると、3頭中2頭で抗FSH抗体価の上昇が認められ、血中P4が低値であることから、ワクチンの効果を確認した。

同居雄の発情行動は観察されているが、雌の発情行動は不明確であり、研究期間終了後も夏の分娩シーズンまで投与個体の観察を継続した結果、妊娠の兆候は観察されず、出産シーズンである6月を過ぎ

でも子鹿の出産はなかった。このため、FSH と GnRH 連結抗原を用いた不妊化ワクチンの効果について期待されるが、今後も経過観察を行い、効果の持続について検討したいと考えている。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

該当なし。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本課題の研究期間終了後以降もワクチンの効果を継続的に評価する予定である。

本課題において、ニホンジカを用いた動物実験およびワクチンの効果を検証するための測定方法を確立した。一方で、今回用いた性腺刺激ホルモンをターゲットとした抗原の効果は、投与3か月後で3頭中2頭と限定的であった。今後は2頭の持続性を確認するとともに、卵巣あるいは受精に直接作用することが期待される抗原を新たに導入する雌に投与し、効果を検証する予定である。その研究予算の獲得のため、令和3年度JRA畜産振興事業に応募した。

10. 公表した成果一覧

FSH と GnRH を連結した抗原に発明特許の可能性があり、農研機構において申請に向けた手続きを開始した。

2020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 エピジェネティック解析
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
	伊藤 洵	農学研究科 畜産学専攻・後期1年	栄養環境の生殖細胞への影響の解析
	佐野 宙矢	農学研究科 畜産学専攻・後期1年	サイトカイン・免疫系解析
	Hoang Trung Hieu	農学研究科 畜産学専攻・前期2年	脂質代謝関連因子の発現解析
	立松 薫	農学研究科 畜産学専攻・前期2年	生殖細胞系のエピジェネティック解析
	市川 佳奈	農学研究科 畜産学専攻・前期2年	栄養環境の生殖細胞への影響の解析
	井上 裕貴	農学研究科 畜産学専攻・前期1年	次世代シーケンサー解析
	永田 修大	農学研究科 畜産学専攻・前期1年	栄養環境の体細胞への影響の解析
	石田 大樹	農学研究科 畜産学専攻・前期1年	栄養環境の子宮環境への影響の解析

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究目的

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、癌・老化・メタボリックシンドローム等を導くことが分かってきた。ウシの場合では、飼料の違いに由来する生理状態の変化や、分娩後の負のエネルギーバランス時の生理状態、は妊孕性に大きく影響することが想定される。またこの生理状態の差は、生殖細胞や胎児に影響し、産子にエピゲネティックな差を惹起すると考えられる。さらに、栄養環境によって腸内細菌叢が変動し、それに伴う miRNA の変化が内分泌、妊孕性、免疫応答や生殖細胞の質に作用する知見が集まりつつある。これらの変化は、子牛が将来に遭遇する高栄養という負荷への応答性に影響し、次世代の形質（生産性・健常・繁殖性）を決定し得る可能性がある。

今年度の研究では、栄養状態の差や飼料の差に由来する脂肪酸、短鎖脂肪酸や細胞外核酸に着目し、これらが卵や胚に影響するのかを明らかにし、これに介入する方法について検討した

5. 研究（実験）方法

実験モデルとしてウシ・ラット・マウスを用いた。

ウシでは分娩後や、肥満時（肥育時）の脂肪酸の血中濃度の動向、エキソソーム miRNA や細胞外 DNA を検討し、卵子の脂質含量を比較した。また、エキソソーム miRNA や短鎖脂肪酸の卵や胚発育に及ぼす影響を調べた。

ラットでは高脂質食、高脂質食と酢酸、通常食を設定し、血液成分、卵子の脂質やエピゲネティックな変化と遺伝子発現について検討した。

マウスの妊娠時肥満モデルを作製し、栄養状態の差が母体および産仔の発育に及ぼす影響を検討した。

6. 研究成果

《ウシを用いた栄養環境による影響の解析》

乳牛や肥育牛を用いた解析では、分娩後の負のエネルギーバランスの時期における血中脂質産量が増加した。これあわせて miRNA のプロファイルも変化した。肥満（肥育）母体由来の産子では、卵子の有する脂質含量が増加していた。また、短鎖脂肪酸は細胞や卵子、胚の脂質量を減らすことで発育に影響を及ぼすことが明らかになった。

《ラットを用いた栄養環境による影響の解析》

ラットに高脂質食を負荷すると、血液や卵子の脂質量を増加させ、卵子のシトシンのメチル化総量を減少させた。また、卵子内ではメチル化転移酵素や脱アセチル転移酵素の遺伝子発現が有意に変化した。

ラットに酢酸を与えると卵子の脂質量の増加が緩和され、メチル化アセチル化関連遺伝子の差が無くなった。高脂質食ラットの産仔は糖耐性が低下し、卵子の脂質量も多くなる結果となった。

《マウスを用いた栄養環境による影響の解析》

ICR マウスに 10 週間高脂肪食を負荷し、妊娠 17 日で剖検を行った。通常食母体と比較し、肥満母体において胎仔重量が減少し、胎盤ではトリグリセリドおよび NEFA の増加、炎症性サイトカインおよび免疫細胞動員の増加が観察された。一方、肥満母体の肝臓および脂肪組織培養液中では、脂肪由来サイトカインであるアディポネクチンや炎症性サイトカイン分泌が減少した。肥満母体の出生体重は通常食母体と比較して増加し、その後の成長過程においても体重が高く、母体肥満が仔の成長に影響することが明らかとなった。

《卵子や胚発生に影響するエクソソーム miRNA の探索》

血中エクソソーム miRNA が栄養条件によって変化する結果から卵子や胚に影響する miRNA を探索したウシ卵管中の miRNA を体内胚と体外胚の RNAseq の結果から予測した。また、卵管液中の miRNA を small RNAseq で調べ、推測した miRNA が含まれていること、性周期によって変動すること、卵管上皮の培養液にも分泌されることを明らかにできた。さらに、miR-17 に着目しこれの培養液への外挿が胚の発育を改善することを示した。

卵胞液中の miRNA は昨年度にブタで同定しており、これらの培地への添加が卵子発育を促すことを明らかにしたが、今年度はこの miRNA がウシの卵胞液中にも高濃度で存在することや、母体の加齢によってその頻度が大きく変化することを明らかにした。若齢で多い miR-19 に着目し、これが顆粒層細胞の培養液、顆粒層細胞中にも含まれることを確認した。また、これを顆粒層細胞の培養条件に外挿して RNAseq を行うと、in silico 解析で推測した遺伝子変動とほぼ同じ変動が得られた。これらの miRNA を卵子の体外発育培地に添加するとその発育を有意に改善した。また、卵や細胞や胚の分泌する細胞外核酸の分泌背景を明らかにできた。さらに研究対象にしている細胞外小胞内には miRNA の他に mRNA や DNA も多く含有されていることがわかり、この分泌量と胚の関係性を調べ、低質な胚や加齢個体から作成した胚に分泌量が多いこと、特にミトコンドリアのゲノムに由来する DNA ではミトコンドリアの動態さらには血中においては母胎の性状と関連していることが明らかになった。

7. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

胚の分泌する細胞外 DNA が胚の質の非侵襲的マーカーになることは学会でも検討されている。

8. 残された問題点と今後の研究推進方策

今年度の研究成果から、母体の栄養状態が卵子・胚発育・妊娠を支える顆粒層細胞や卵管機能・胎盤・産仔の成長など、様々な生殖イベントに影響を及ぼすことが明らかになってきた。この影響を及ぼす機序として、エクソソーム miRNA が役割を担っているという仮説で研究を進め、ターゲット miRNA も同定できつつある。

次年度の研究では、ウシの卵胞液の組成やターゲット miRNA が栄養条件でどのように変わるのか、健康および肥満（肥育）牛でそれぞれ発現が高い miRNA が生殖細胞や胚に及ぼす影響を明らかにする必要がある。次に、ターゲット miRNA を適切に制御する可能性を検討するため、ラットまたはマウスを用いて検討する。具体的には、母体に酢酸などの低級脂肪酸を摂取させることでターゲット miRNA の

変動や産仔の成長および肥満発症に及ぼす影響を明らかにする研究を計画している。

以上のように、栄養環境に左右される生殖機構と miRNA の分子メカニズム解明と制御方法を確立することで、次世代形質に最良な新規飼養方法の開発・提案に取り組む

9. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) 野口龍生、相澤拓郎、岩田尚孝。ウシの分娩前後における血漿中ミトコンドリア由来細胞外 DNA 量の変化と血液成分値との関係 日本畜産学会報 2020 年 91 巻 3 号 227-232
- 2) Kobayashi M, Ito J, Shirasuna K, Kuwayama T, Iwata H. Comparative analysis of cell-free DNA content in culture medium and mitochondrial DNA copy number in porcine parthenogenetically activated embryos *J Reprod Dev.* 2020; 66: 539-546
- 3) Kobayashi M, Kobayashi J, Shirasuna K, Iwata H. Abundance of cell-free mitochondrial DNA in spent culture medium associated with morphokinetics and blastocyst collapse of expanded blastocysts. *Reprod Med Biol.* 2020 ; 19: 404-414.
- 4) Nagata S, Tatematsu K, Kansaku K, Inoue Y, Kobayashi M, Shirasuna K, Iwata H. Effect of aging on mitochondria and metabolism of bovine granulosa cells. *J Reprod Dev.* 2020; 66: 547-554
- 5) Inoue Y, Munakata Y, Shinozawa A, Kawahara-Miki R, Shirasuna K, Iwata H. Prediction of major microRNAs in follicular fluid regulating porcine oocyte development *J Assist Reprod Genet* 2020;37:2569-2579.
- 6) Noguchi T, Aizawa T, Munakata Y, Iwata H. Comparison of Gene Expression and Mitochondria Number Between Bovine Blastocysts Obtained in Vitro and in Vivo *J Reprod Dev.* 2020; 66: 35-39.
- 7) Sano M, Shimazaki S, Kaneko Y, Karasawa T, Takahashi M, Ohkuchi A, Takahashi H, Kurosawa A, Torii Y, Iwata H, Kuwayama T, Shirasuna K. Palmitic acid activates NLRP3 inflammasome and induces placental inflammation during pregnancy in mice. *J Reprod Dev* 2020; 66: 241-248
- 8) Nakamura Y, Aihara R, Iwata H, Kuwayama T, Shirasuna K. IL1B triggers inflammatory cytokine production in bovine oviduct epithelial cells and induces neutrophil accumulation via CCL2. *Am J Reprod Immunol* 2020; In press

2020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・D2	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・D1	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

2020年4月1日～2021年3月31日（3年計画の2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

上記の背景のもと、本研究では SL 生産のホストとして葉緑体の祖先生物であるシアノバクテリアに着目した。SL は β カロテンを原料として 4 酵素 (D27、CCD7、CCD8 および P450 酵素である MAX1) により葉緑体で合成されるため、本菌が最適である。更に光合成により CO_2 を有機化合物に変換でき、安価な培地で合成可能である。申請者らは SL 生合成遺伝子の 3 種類を導入する事で SL 前駆体であるカーラクトン (CL) を作物の 100 倍以上高濃度で蓄積する株の取得に成功している。これまで有機合成でしか生産できなかった CL の高効率な醗酵生産は、産業化への可能性を示す大きな成果である。

以上を基盤に、本研究ではストライガ防除を目指し、ストリゴラクトン (SL) のシアノバクテリアによる新規大量生産系の確立、P450 酵素の機能改変による高活性型 SL (スーパー-SL、SSL) の創製を行う。またスーダンとは異なる気候、土壌条件のアフリカ地域としてジブチを例にストライガ被害および分布状況、土壌環境の調査を行うことで SL によるストライガ防除可能性を検討する。

6. 研究 (実験) 方法

1、シアノバクテリアへの SL 生合成遺伝子導入と、代謝経路を改変した高生産株の作出 (渡辺、伊藤、對馬、坂田、坂巻、川田)

- 1-1. カーラクトン生産系の評価
- 1-2. カーラクトン活性の評価
- 1-3. 土壌微生物に対するストリゴラクトンの影響調査

2、ジブチにおけるストライガ汚染状況、土壌性質の調査 (橘、大島、渡辺)

- 2-1. ジブチ土壌における根寄生植物の調査
- 2-2. ジブチ土壌に含まれる栄養成分の分析

7. 研究成果

1、シアノバクテリアへの SL 生合成遺伝子導入と、代謝経路を改変した高生産株の作出 (渡辺、伊藤、坂田、坂巻、川田)

1-1. カーラクトン生産系の評価

D27、CCD7、CCD8 の 3 つの遺伝子をシアノバクテリアに導入して作成したカーラクトン生産系について、さらに詳細な研究を進めた。カーラクトン生産が 3 遺伝子の導入によるものであることを確認するために、D27 と CCD7 のみを導入した株 (SL2-1 株)、および CCD7 と CCD8 のみを導入した株 (SL2-2 株) をそれぞれ新たに作成し、カーラクトン生産量を解析した。どちらの株でもカーラクトンが生産されないことを期待して計画したが、予想に反し、SL2-2 株では SL3 株と同程度のカーラクトン生産が確認された。この結果より、シアノバクテリアを用いたカーラクトン生産系において D27 の寄与度は低いことが示唆された。

1-2. カーラクトン活性の評価

昨年度までにシアノバクテリアで合成されたカーラクトンの活性を根寄生植物である *Orobanche minor* (*Orobanche*) を用いて評価した結果、カーラクトン生産株は *Orobanche* の発芽を誘導し、およそ 100 nM のカーラクトンを培地中に放出していることを見出している。ストリゴラクトン類は根寄生雑草発芽活性の他に、植物において枝分かれを抑制する植物ホルモン活性を有している。そこでカーラクトン生産株を用いて植物ホルモン活性の評価を行なった。カーラクトン生産株の培養液を酢酸エチルで抽出、濃縮後、ストリゴラクトン生合成変異体である *d10-1* 変異体に与え生育させたと

ころ、イネの枝分かれに相当する分けつの伸長が抑制されたことから、カーラクトン生産菌もストリゴラクトン活性を有することが示された。

1-3. 土壌微生物に対するストリゴラクトンの影響調査

農大土壌を用いて、ストリゴラクトンを 2mg/2ml を処理し、室温で保存した（4 反復）対照区としてストリゴラクトン無処理区を設定した。ストリゴラクトン処理 24 時間後、48 時間後に、土壌から DNA を回収し、16S リボゾーム領域（V5-V7 領域）をターゲットにして、PCR によるラベリング、DNA 増幅等を行った後、次世代シーケンサーによる解析を依頼した。その結果、①分類階級による微生物の相対頻度、②属別ヒートマップ、③微生物多様性評価（主座標分析、シャノン指数、シン普森指数）で解析した結果、ストリゴラクトン処理区と対照区の間には、処理 24 時間後、48 時間後ともに明瞭な差がみられなかった。この結果から、少なくとも農大土壌に関しては、処理後 1 日を経た場合、土壌微生物への影響は少ないと考えられた。

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調査を実施する予定であったが、コロナウィルス感染拡大防止措置のため、ジブチへの渡航ができず今年度は研究が実施できなかった。

2-2. ジブチ土壌に含まれる栄養成分の分析

昨年度ジブチより持ち帰った試験圃場の土壌サンプルについて、無機成分の分析を実施した。調査圃場の土壌は pH (H₂O) が 8.1~9.0、Ca 飽和度は全圃場で 300%以上と非常に高い、石灰質土壌であった。Mg と K は土壌により肥沃度が大きく異なるため、圃場毎に施肥を変える必要がある。土壌の高 pH 条件で欠乏が懸念させる B、Mn、Zn、Cu、Fe を DTPA 抽出により分析した結果、Mn は十分含まれていたが Fe、Zn、Cu は全圃場で低いため、補給が必要である。B の肥沃度も圃場により大きく異なった。高 pH で有機物分解が早い可能性もあるため、休耕期間を設けることが可能ならば、緑肥を栽培して鋤き込むことで、有機物の補給、肥料成分のリサイクル、さらには作物生産性の判断が可能と考えられる。また、試験圃場 A-D ではいずれも可給態リン酸量の割合が低いことが示された。植物はリン酸量が少ないと SL 合成が促進されるためストライガに寄生されやすくなることが知られている。一方 pH が高い環境では SL 化合物は分解されやすく、比較的 pH の高いジブチ土壌での SL 化合物の安定性も合わせて考慮する必要があると考えられた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

橘および渡辺は、昨年度より採択された SATREPS「ジブチにおける広域緑化ポテンシャル評価に基づいた発展的・持続可能水資源管理技術確立に関する研究」（代表：島田沢彦教授）の研究分担者である。SATREPS ではジブチにおける有用植物の調査、およびその利用を担当しており、本プロジェクトで得られた成果を活用できる。

シアノバクテリアを用いたカーラクトン生産に関しては昨年度、本学より特許を申請した（特願 2020-22999）。また、企業からの問い合わせもあり、本プロジェクトを推進することで企業との共同研究が期待される。これまでに株式会社マイクロバイオファーマ、株式会社カネカとの研究打ち合わせを実施した。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

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が期待できる。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、情勢を確認しながら推進する。来年度の具体的な研究推進方策は以下の通りである。

1、シアノバクテリアへの SL 生合成遺伝子導入と、代謝経路を改変した高生産株の作出 (渡辺、伊藤、坂田、坂巻、川田)

1-1. カーラクトン生産系の評価

シアノバクテリアでは 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 β カロテンから 9-cis- β カロテンの異性化を担う酵素であるが、 β 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 に依存せずに 9-cis- β 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、来年度以後は様々な生物種の D27 酵素を SL3 株へと導入し、カーラクトン生産への影響を解析する。

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る。

1-3. 土壌微生物に対するストリゴラクトンの影響調査

ストリゴラクトン処理後 24 時間、48 時間では土壌微生物叢への影響は確認されなかったため、来年度はストリゴラクトン処理直後の土壌微生物への影響を評価する予定である。

2、ジブチにおけるストライガ汚染状況、土壌性質の調査 (橘、大島、渡辺)

2-1. ジブチ土壌における根寄生植物の調査

今年度は新型コロナウイルスの影響で調査を行うことができなかったが、情勢を注視し調査を実施する。具体的には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の調査を実施する。生の土壌を持ち帰ることは困難であるため、現地で試験を実施する必要がある。IAC-165 の生育を補助するための施肥量や栽培環境について、複数の条件で検討する。

2-2. ジブチ土壌に含まれる栄養成分の分析

圃場の土壌成分の調査を実施する。エチオピアでは根寄生植物の被害が報告されている。よりエチオピアに近いジブチ西部を訪問する計画があるため、土壌についても採取し、成分を解析する。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Kawada K, Uchida U, Takahashi I, Nomura T, Sasaki Y, Asami T, Yajima S, Ito S. Triflumizole as a novel lead compound for strigolactone biosynthesis inhibitor. *Molecules*, 2020, 25, 5525
- 2) Kurio Y, Koike Y, Kanesaki Y, Watanabe S, Ehira S. The CRP-family transcriptional regulator DevH regulates expression of heterocyst-specific genes at the later stage of differentiation in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *Mol. Microbiol.* 2020, 114, 553
- 3) Kashimoto T, Miyake K, Sato M, Maeda K, Matsumoto C, Ikeuchi M, Toyooka K, Watanabe S, Kanesaki Y, Narikawa R. Acclimation process of the chlorophyll d-bearing cyanobacterium *Acaryochloris marina* to an orange light environment revealed by transcriptomic analysis and electron microscopic observation. *J Gen Appl Microbiol.* 2020, 17, 106
- 4) Watanabe S, Saito S, Suezaki Y, Seguchi T, Ohbayashi R. Specific binding of DnaA to the DnaA box motif in

the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *J Gen Appl Microbiol.* 2020, 17, 80

- 5) Saito M, Watanabe S, Nimura-Matsune K, Yoshikawa H, Nakamoto H. Regulation of the *groESL1* transcription by the HrcA repressor and a novel transcription factor Orf7.5 in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC7942. *J Gen Appl Microbiol.* 2020, 17, 85.
- 6) Mahbub M, Hemm L, Yang Y, Kaur R, Carmen H, Engl C, Huokko T, Riediger M, Watanabe S, Liu LN, Wilde A, Hess WR, Mullineaux CW.M, mRNA localization, reaction centre biogenesis and thylakoid membrane targeting in cyanobacteria. *Nat Plants*, 2020, 6, 1179.

学会発表

- 1) 坂巻 裕、高市 真一、木村 友紀、梅野 大輔、伊藤 晋作、渡辺 智、シアノバクテリア高発現ベクターの開発とそれを利用したストリゴラクトン生産系の構築、2020 年農芸化学会関東支部会、筑波大学（オンライン）、優秀発表賞受賞
- 2) 坂巻 裕、高市 真一、木村 友紀、梅野 大輔、伊藤 晋作、渡辺 智、シアノバクテリア高発現ベクターの開発とそれを利用した物質構築、第 15 回日本ゲノム微生物学会年会、九州大学（オンライン）

2020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構造活性相関
	鵜飼 亮伍	応用生物科学研究科 食品安全健康学専攻・修士課程 2 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
	菊地 瑛登	応用生物科学研究科 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
研究協力者	古木 利彦	株式会社サカタのタネ	ブロッコリーの提供

3. 研究期間

2020年4月1日～2021年3月31日(3年計画の2年目)

4. 研究の背景(当初)

研究代表者はこれまでに、抗メタボリックシンドローム作用を有する食品成分の同定を目指し、*in vitro* 評価系(SREBP(Sterol regulatory element-binding protein)活性の評価系)を用いて探索を行い、ブロッコリーに含まれるスルフォラファン(SFaN)を見出すことに成功した。SFaNは脂質代謝を包括的に制御する転写因子 SREBP の活性を阻害することで脂質の生合成を抑制すること、肥満モデルマウスへの投与により抗肥満や抗脂肪肝作用を発揮することを明らかにしてきた。

5. 研究目的

本研究プロジェクトでは、以下の2点について検討を行う。

① 高い SREBP 抑制活性を有するブロッコリー品種および部位の選別と抽出方法の確立

SREBP 活性の抑制能を指標にして、抗肥満作用を示すブロッコリーの品種やその部位（茎や葉）を選別し、SREBP 活性抑制物質の最適な抽出法を確立する。「サカタのタネ」が所有する約 30 品種のブロッコリーを対象とする。

② 選別したブロッコリーの抗肥満作用の検討

選別したブロッコリー破砕物や抽出物を肥満モデルマウスに摂食させ、抗肥満や抗脂肪肝作用等について検討する。

これらの結果を基に、今後、ヒトでの効果の検証を行い、農大発の高機能性野菜開発につなげることを本プロジェクトの目的とする。

6. 研究（実験）方法

1. 高い SREBP 活性抑制能を有するブロッコリー品種・部位の選別

初年度に確立した抽出法を用いて、「サカタのタネ」が所有する約 30 品種のブロッコリーを可食部（花蕾）と茎および葉に分け抽出を行い、*in vitro* 評価系を用いて SREBP 活性を最も強く抑制する品種・部位を選別する。評価系には SREBP の代表的な標的遺伝子である、脂肪酸合成酵素遺伝子プロモーター領域によるルシフェラーゼレポーターアッセイを用い、標品は終濃度 0.1, 0.03, 0.01mg/ml で処理を行う。それと同時に抽出物中の SFaN の含有量を LC/MS 分析により測定する。

2. SREBP 活性抑制能と SFaN 存在量の相関分析

得られたデータを用いて SREBP 活性の抑制能と SFaN の存在量の相関分析を行う。これにより、ブロッコリーに含まれる SREBP 活性抑制を担う成分が、SFaN 以外に存在するかどうかについての知見を得る。

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

サカタのタネより 29 品種のブロッコリーを御供与いただいた。それぞれを可食部（花蕾）と茎および葉に分け抽出を行い、全部で 87 検体（29 品種×3 部位）について脂肪酸合成酵素遺伝子プロモーター領域によるルシフェラーゼレポーターアッセイを行った。その結果、品種によって傾向の違いはあるが、おしなべて茎抽出物の活性が高かった。花蕾抽出物にも活性が観察されたが茎抽出物と比較すると活性は弱く、また葉抽出物の活性は低かった。活性の強い上位 12 検体には、7 品種の茎と 5 品種の花蕾が含まれていた。また 3 品種については茎と花蕾両方で含まれていた。

次に、最も活性の強かった上位 12 検体のブロッコリーについて新たに栽培後に抽出・解析を行い、再現性を検討した。その結果、多くの検体で 1 回目の検討と同様の高い SREBP 抑制活性を観察することができた。これらの結果から、今回選別したブロッコリー品種は栽培時期によらずに、高い SREBP 抑制活性をもつが明らかになった。

次に、活性が検出された 43 検体について、LC/MS を用いて SFaN 含有量を計測した。

2. SREBP 活性抑制能と SFaN 存在量の相関分析

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。また、SFaN の精製標品 (10, 30, 100 μ 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。特筆すべきこととして、SFaN がほとんど存在しないにも関わらず強い抑制能をもつ検体を見出すことができた。今後、この検体を用いて、SFaN 以外の活性成分の同定を目指す。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

該当なし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

SREBP 活性抑制能の強い 1 2 検体の再現性を取得後、肥満モデルマウスを用いた抗肥満作用の検討を行う。また、SFaN 以外の活性成分の同定を目指す。

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 小高 愛未、正路 健太、松谷 峰之介、志波 優、松本 雄宇、鈴木 司、山本 祐司、井上 順
<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>
第 74 回日本栄養・食糧学会大会／仙台 (Web) 2020 年 5 月
- 2) 菊地 瑛登、松永 優輝、小高 愛未、正路 健太、宮田 慎吾、石神 健、松本 雄宇、鈴木 司、山本 祐司、佐藤 隆一郎、井上 順
<SFaN による前駆体 SREBP 分解促進作用の解析>
日本農芸化学会 2021 年度大会／仙台 (Web) 2021 年 3 月
- 3) 小高 愛未、菊地 瑛登、正路 健太、石神 健、松本 雄宇、鈴木 司、山本 祐司、井上 順
<スルフォラファンの新規結合分子の探索>
日本農芸化学会 2021 年度大会／仙台 (Web) 2021 年 3 月

2020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・職名	個別研究課題名
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：精管由来精子の凍結保存・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	生物産業学部 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・博士後期課程2年	生産形質と関連する遺伝子多型の同定
	高橋 亜希	生物産業学研究科・博士前期課程2年	2年鳥における屠体形質の統計学的解析
	福村 啓文	生物産業学研究科・博士前期課程2年	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・博士前期課程1年	生産形質関連する遺伝子の機能解析
	高橋 諒	生物産業学研究科・博士前期課程1年	日本国内におけるエミューの遺伝資源の探索
	宮本 崇史	生物産業学研究科・博士前期課程1年	採精時期が凍結精子の生存性に及ぼす影響

3. 研究期間

2020年6月9日～2021年3月31日（3年計画の1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

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。我々はこれまでに、エミュー雌雄の DNA 鑑定効率化 (Koshiishi and Wada, 2018. *Poult Sci*)、新規遺伝マーカーの開発と国内エミュー集団の遺伝資源調査 (Koshiishi et al. 2020. *Mol Biol Rep*; Koshiishi et al. 2020. *J Vet Med Sci*)、ならびに高精度な親子の DNA 鑑定法の確立 (Koshiishi et al. 2021. *Gene*) を実現してきた。加えて、申請者らは屠畜個体における精管由来精子の凍結融解後の運動精子の存在を確認しており、この人工授精への実用化が今後の課題となった (興石ら, 2019, 北海道畜産草地学会 第 8 回大会)。さらに、高蛋白質であり、ビタミン A 誘導体のベータカロテンを食肉、卵および脂肪に移行させることが期待できる新たな自給飼料を開発した。本申請は、①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、②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、ならびに③機能性自給飼料の作製と栄養学的評価と生産物への機能性付与、などによって日本発ブランドエミューの確立を目指すものである。

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

申請者らはすでに 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、2020 年度はこれら SNPs を対象としたマーカー開発を行う。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。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。

2) エミュー屠体における表現型解析

網走市エミュー牧場で飼育された 2 歳の 12 個体における脂肪融点を計測し、その値は高、中間および低温グループに分類し、それぞれオスおよびメスを 2 個体ずつ、合計 12 個体についてガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) により脂肪酸組成を調査した。

3) 産脂肪形質に関連する遺伝子多型の検索

RNA-seq 解析によりスクリーニングされた脂肪組織高発現遺伝子について、RT-PCR による cDNA シークエンシングを行い、その個体間における多型、特にアミノ酸置換を引き起こすミスセンス多型を検索した。ミスセンス多型が検出された遺伝子については、脂肪重量、脂肪融点および脂肪酸組成を測定した個体のゲノム DNA 配列を決定し、遺伝子型と形質との関連解析を行った。

4) 生産形質と関連する遺伝子の機能解析

3) において形質との関連があった遺伝子を標的として定量的 RT-PCR による遺伝子発現解析を行い、その発現量と形質との関連解析を行った。また、3)の RNA-seq 解析によって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) におけるエミューの主要臓器における RT-PCR 解析を行った。加えて、NELT1 においては RACE-PCR による完全長 cDNA 配列を決定した。

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

屠畜直後の精管を灌流して採取したエミュー精子を凍結保存し、PI/PNA 染色より凍結融解前後の精子生存性および先体膜正常性を評価した。エミュー精子の凍結に用いる耐凍剤 (メチルアセトアミド：MA) 濃度が、精子生存性および先体膜正常性に及ぼす影響を検討した。京都大学で開発されたコンピューター精子運動性解析 (CASA) システムを利用し、凍結融解がエミュー精子の運動性に及ぼす影響を評価した。雌エミューに対して人工授精を実施し術式を確認した。人工総排泄腔による射出精液の採取方法を検討した。

効率的な人工授精には、短時間のエミュー不動化が目的であることから、国内で家畜に幅広く使用されており入手のしやすい鎮静・鎮痛薬の中から、①キシラジン単体 0.005 mg/kg ②塩酸メデトミジン単体 0.2 mg/kg ③キシラジン 0.005 mg/kg+塩酸メデトミジン 0.2 mg/kgの混合薬について、人工授精を試みたエミュー1羽に投与し、その効果を検討した。

③ 栄養学：機能性自給飼料の作製と栄養学的評価と生産物への機能性付与

1) エミューの採食性を改良した自給飼料の作製

これまで課題であったエミューの採食性を改善する原料配分を検討するために、エミューの嗜好性の低いポテトプロテインの原物混合比をこれまでの 10%から 5%へと減少させることとした。規格外ニンジン：ポテトプロテイン：フスマを原物混合比で 75：5：20 の割合で混合し、90ℓ 容の FRP サイロに 1 基あたり 100kg 詰め、合計 20 基のサイレージを調製した。

本学で飼育されているエミュー春期 4 羽 (3 歳雌 1 羽、2 歳雄 1 羽、雌 2 羽)、秋期 3 羽 (3 歳雌 1 羽、2 歳雄 1 羽、雌 1 羽) を用いて、2×2 ラテン方格法による採食試験を実施した。試験期間は春期 2020 年 3 月 13 日～4 月 10 日、秋期 2020 年 9 月 23 日～10 月 18 日とした。試験区としてサイレージ区と対照区を設けた。サイレージ区では、5%ポテトプロテイン混合ニンジンサイレージとレイヤーを乾物混合比で 78：22 の割合で混合し、対照区ではレイヤー：大豆粕：フスマを 50：5：45 の割合で混合し給与した。

測定項目は原物および乾物採食量、体重とした。分析項目は給与飼料および原材料の一般成分のうち水分含量、粗蛋白質 (CP) 含量、粗脂肪含量、粗灰分含量、中性デタージェント繊維 (NDF) 含量、酸性デタージェント繊維 (ADF) 含量とした。サイレージは一般成分、NDF 含量、ADF 含量に加えて pH、乳酸含量、揮発性脂肪酸含量と揮発性塩基態窒素の割合から V スコアを算出し、発酵品質を評価した。

2) 自給飼料を給与されたエミュー生産物の成分組成

2018 年 7 月 12 日～9 月 30 日までの間、10%ポテトプロテイン混合ニンジンサイレージを中心に給与された後、10 月 1 日～25 日の間、レイヤー、アルファルファヘイキューブ、小麦、大豆粕を給与し、その後 10 月 29 日に屠畜されたエミュー1 歳雄 4 羽について、脂肪融点の計測と脂肪酸組成の分析を行った。

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

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。加えて、99 SNPs のうち、脂肪重量に有意に関連した 13 SNPs については既に PCR プライマーを合成しており、先行してマーカー化を進めている。

2) エミュー屠体における表現型解析

脂肪酸組成はエミューオイルにおけるスキンケアの機能に重要な役割を持つ (Politis et al., 1998; Zanardo et al., 2017)。エミューオイルの脂肪酸組成の報告例はあるものの、その個体差については詳細に調査されていない。本研究は、融点の違いに基づいて選定した 12 個体の脂肪組織について、パルミチン酸 (C16:0)、ステアリン酸 (C18:0)、オレイン酸 (C18:1n9)、リノール酸 (C18:2n6) および α -リノレン酸 (C18:3n3) 含有率を測定した。エミューオイルにおいて主要な脂肪酸は C18:1n9 (54.1 \pm 5.4%) であり、次いで C16:0 (22.3 \pm 3.7%)、C18:2n6 (13.2 \pm 8.0%) および C18:0 (9.4 \pm 2.0%) であり、微量な C18:3n3 が検出された。これは、これまでの複数の報告 (Wang et al. 2000; Shimizu and Nakano 2003) と一致したが、Buclaw (2020) とは異なった。C16:0、C18:0 および C18:1n9 における CV 値は 0.1% から 0.2% であり、これらの脂肪酸組成に個体間の大きな差異は認められなかった。一方で、C18:2n6 の比率は大きく偏向し、その値は 0.3% から 19.9% であった。この C18:2n6 の大幅なバラつきはいくつかの試料に起因し、それは 0.3% から 0.9% の低い値を示した。従って、エミュー脂肪酸組成において C18:2n6 は二極性である一方で、他の脂肪酸は安定的な比率であった。C18:2n6 はヒトを含む動物にとって必須脂肪酸の一つである。脂肪組織における C18:2n6 の存在・非存在によるエミューオイルの品質への影響について予測できないものの、このことはオイルの品質を評価するためのマーカーとなる可能性があると考えられた。

次に、飽和/不飽和脂肪酸比 (C18:1/C18:0) が MP に及ぼす影響について検証した。C18:1/C18:0 比は stearoyl CoA desaturase (SCD) によって直接的に制御されており (Estany et al., 2014)、本研究において MP と C18:1/C18:0 比の間には負の相関が観察された ($r=-0.62$, $P<0.05$)。不飽和脂肪酸である C18:1n9 は飽和脂肪酸である C18:0 より低い融点を示すことから、脂肪組織中における C18:1n9 の高い含有率は低い個体と比べて低融点であると考えられた。脂肪酸組成を測定した 12 個体の飼料条件などの飼育環境は同一であったため、我々は本研究により検出された脂肪酸組成の個体差は、脂肪酸の吸収、合成および代謝に作用する遺伝子多型に起因すると考えている。エミューの脂肪酸組成は、複数の報告 (Beckerbauer et al., 2001; Wang, 2000; Shimizu and Nakano, 2003; Buclaw et al., 2020) があるものの、本研究はその融点と脂肪酸組成が相関することを初めて明らかにした (Koshiishi et al. *Scientific Reports*, Under review)。

3) 産脂肪形質に関連する遺伝子多型の検索

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 (*MIDIPI*)、Stearoyl CoA desaturase (*SCD*)、Peroxisome proliferator activated receptor γ (*PPARG*)、CCAAT/enhancer binding protein α, β, δ (*C/EBP α, β, δ*) 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 *PLINI* (p.Asn87Ser および p.Lys196Met) および *SCD* (p.Leu89Phe) において確認した。次にそれらゲノム多型と、生産形質との関連解析を行った。*PLINI* において p.Asn87Ser を引き起こす SNP のジェノタイピングを行った結果、AA、AG および GG 型はそれぞれ 71、4 および 2 個体に検出された。このことから、網走エミュー牧場で飼育されるほとんどの個体は AA 型に固定されつつあることが推測された。次に *SCD* におけるゲノム多型と、脂肪組織におけるオレイン酸/ステアリン酸比との関連解析を行った結果、AA、AC および CC 型の値はそれぞれ 6.94、5.73 および 4.75 であり、AA 型が CC 型よりも有意にオレイン酸含量が高いことが示された ($P < 0.05$)。以上の結果は *SCD* の遺伝子多型が有用な DNA マーカーになることを示唆した。

4) 生産形質と関連する遺伝子の機能解析

前項において *SCD* のゲノム多型がエミュー脂肪組織におけるオレイン酸含量に関与することが示唆されたため、異なる脂肪融点 (高温、中間および低温) 間における *SCD* の遺伝子発現量との関連性を検証した。その結果、個体差が大きく、有意な差異は確認されなかったものの、融点が低いグループほど *SCD* の発現量が高い傾向にあった。さらに、有意でないものの、*SCD* の発現量は融点との間に負の相関関係 ($r = -0.543$)、オレイン酸/ステアリン酸比との間で正の相関関係 ($r = 0.503$) にある傾向がみられた。以上の結果は、*SCD* の mRNA 量が脂肪中の飽和脂肪酸の不飽和化に影響することを示唆し、その発現量は個体によって異なることが示された。

次に、*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、肝臓および生殖器などに由来する 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。以上の結果は、*NELT1* がエミューにおける脂肪産生に関与する可能性があることを示した。

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

凍結融解後のエミュー精子の生存性と先体膜正常性は、凍結前に比較して有意に低下した。18%MA で凍結した精子は、7.5%MA に比較して高い生存性と先体膜正常性を示した。CASA システムの条件検討の結果、血清添加および 37°C の条件で最も精子の運動性が高くなることが示され、研究室内で独自にエミュー精子運動性を評価する方法を確立した。凍結融解後の精子は CASA システムによる運動性評価値が低下した。今後は、調査羽数を増やし、PIPNA 法や CASA システムを活用した耐凍剤濃度の検討を行う。

人工授精を実施した雌エミューはこれまでのところ産卵しておらず、有精卵の回収は確認できなかった。人工総排泄腔を用い、学内で飼育する個体一羽から射出精液を定期的に回収することに成功した。今後、採精個体を増やし、射出精液の性状の個体差や季節の影響を検討するとともに、凍結保存および人工授精への応用を検討する。

麻酔法の開発において、キシラジン単体、および塩酸メドミジン単体の投与では、投与後の鎮静効果は得られず、行動に変化が見られなかった。キシラジンと塩酸メドミジンの混合薬では、投与後 15

分経過後、行動の鈍化やふらつきが観察されたが、人工授精をスムーズに行うことができるほどの鎮静効果は得られなかった。今後は法的整備を整え、麻薬に指定されている麻酔薬と塩酸メデトミジンの混合麻酔の有用性を調査していく予定である。

③ 栄養学：機能性自給飼料の作製と栄養学的評価と生産物への機能性付与

1) エミューの採食性を改良した自給飼料の作製

給与飼料原料の成分組成は、大豆粕、ポテトプロテインの CP 含量が、2009 年度版日本標準飼料成分表の値と比較してそれぞれ 18.7 ポイント、31.7 ポイントと大きく低い結果となったが、各サイレージの CP 含量は 17.3~18.8%DM であり、設計値である 15.0%を上回った。また、サイレージの pH は 4.09、V スコアは 85.3 点であり、高品質サイレージであった。

対照区、サイレージ区で給与した飼料全体の CP 含量は、対照区 18.3%DM、サイレージ区 17.0%DM であり、繁殖維持に必要なエミューの CP 要求量である 16%DM を満たしていた。

対照区およびサイレージ区における季節ごとの代謝体重あたりの採食量は、対照区は春が 320.0gDM/kgBW0.75/日/羽、秋は 146.1gDM/kgBW0.75/日/羽、サイレージ区は春が 270.0gDM/kgBW0.75/日/羽、秋が 137.8gDM/kgBW0.75/日/羽であった。サイレージ区に比べ対照区、秋期に比べ春期の採食量が多い結果となった。対照区の採食量が多い傾向にあったが、過去に行った 10%ポテトプロテイン混合ニンジンサイレージと比較するとおおよそ 1.5 倍採食されており、嗜好性が改善していた。したがって、5%ポテトプロテイン混合ニンジンサイレージは、栄養価だけでなく嗜好性も満たしたサイレージであると考えられる。

2) 自給飼料を給与されたエミュー生産物の成分組成

4 羽の脂肪融点の平均値は 21.2°C であり、最小値が 19.1°C、最大値が 26.0°C だった。トウモロコシ主体の配合飼料を給与されている網走エミュー牧場で飼育されたエミュー脂肪の脂肪融点と比較したところ、脂肪融点が低いと分類される 16°C 以下の個体はいなかった。

また 4 羽の脂肪酸含有量の平均値は、パルミチン酸が 22.1%、ステアリン酸が 8.6%、オレイン酸が 48.3%、リノール酸が 19.4%、リノレン酸が 1.6% であった。網走エミュー牧場のエミューのうち、本調査と同じ脂肪融点の個体を選び脂肪酸含有量を比較したところ、ニンジンサイレージを給与したエミューの方がリノレン酸の含有量が有意に高かった。ニンジンを給与されたニワトリでは、生産物にビタミン A 誘導体移行することが知られており、今後は脂肪中に含まれるビタミン A 誘導体の含有量を調査する必要がある。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現時点ではないが、網走エミュー集団で検出された SCD 多型は、オレイン酸/ステアリン酸比に有意な関連を示したことから、当該形質のマーカーアシスト選抜に応用できることが期待される。また、本研究が独自に確立したエミュー精子の運動性評価システムは、人工授精の成功率を高めるための有用なツールとなることが期待された。加えて、本研究は人工総排泄腔による生体からの射出精液の回収に成功し、それは人工授精の確立のための大きな前進となると予測された。本研究は栄養価と嗜好性がともに高いポテトプロテイン混合ニンジンサイレージの開発に成功した。サイレージは周年給餌が可能であり、原材料費も安価であることから、これは北海道において有用なエミュー用飼料となることが期待された。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

遺伝資源の探索など、当初に予定していたいくつかの研究項目は、コロナ禍にあったために進めることができなかった。これについては次年度も先行きは不明であるが、可能ならば山口県蓋井島および富士花鳥園のエミューについて遺伝的構造を明らかにしたい。アミノ酸置換を伴う SNP が検出された *PLINI* は遺伝子型の極端な偏りがみられ、その形質との関連は検証できなかった。したがって、今後は多くの個体数について表現型解析を行い、*PLINI* 遺伝子型との関連性を明らかにしたい。また、*NELTI* の 5' UTR には脂質代謝に重要な転写因子群の結合モチーフが認められたものの、それは *in silico* における予測に留まった。そのため、今後は EMSA による核内タンパク質—5' UTR 配列の結合試験を計画している。加えて、*NELTI* の機能は *in silico* においても予測することができなかった。このため、*NELTI* に標識タグを付加する発現コンストラクトを作製し、培養細胞における局在や導入細胞の分化性について検討したい。現在は特異抗体の作製と、それを用いた *NELTI* の脂肪組織における免疫組織化学的解析を予定している。

耐凍剤として 18%MA を用いた凍結精液は融解後の生存性に有意な改善が認められた。加えて、本年度は凍結融解後の精子の性状を評価できるシステムを確立した。したがって、今後は調査羽数を増やし、PI/PNA 法や CASA システムを活用した耐凍剤濃度の検討を行う。また、射出精液の回収の成功したため、今後はその性状について特性評価を行い、複数羽のメスに対して人工授精を試みる。加えて、本年度はエミューに有効な麻酔を開発に至らなかった。次年度は混合する麻酔、ケタミンを用いる場合の管理体制なども含めて検討したい。

ポテトプロテイン混合ニンジンサイレージの給餌による生産物の評価については供試羽数が少なかつたため、次年度も継続して行いたい。また次年度はサイレージおよび生産物へのビタミン A 誘導体含量を測定する。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Koshiishi Y, Uchiyama H, Murata-Okubo M, Tanaka K, Kameyama Y, Hirayama H, Wada K. Development of 49 novel microsatellite markers from Next-generation sequencing data and a robust method for parentage tests in the emu (*Dromaius novaehollandiae*). *Gene*. 2021 Feb 15;769:145238. doi: 10.1016/j.gene.2020.145238. PMID: 33068676.

その他

- 1) 和田健太. 新たな動物資源、エミューの遺伝的改良に関する研究. 第1回 農・動物・未来研究会. 2020年11月25日. オンライン (東京農業大学・麻布大学). <https://youtu.be/qAQ4DOnIIFY>.

研究所記事

東京農業大学総合研究所研究会 令和2年度事業報告

(令和2年4月1日～令和3年3月31日)

1. 概要

1) フォーラム

令和2年度はフォーラムを1回、開催した。

2) 研究会事務

農生命科学研究所事務部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

	R2. 3. 31 時点	入 会	退 会	R3. 3. 31 現在
顧 問	2			2
名誉会員	8		1	7
法人会員	187	3	11	179
個人会員	95	4	7	92
特別会員(A)：農生研教職員(客員を含む)	100	18	5	113
特別会員(B)：東京農大教職員	196	10	9	197
合 計	588	35	33	590

※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2年7月30日(木)～令和2年8月5日(水)

開催方法：Eメール(書面議決)

2) 第39回 通常総会

開 催 日：令和2年8月24日(月)

開催方法：総会資料送付による暫定開催

3) 特別講演会

新型コロナウイルス感染症拡大防止のため開催しなかった。

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2年7月22日(水)

開催方法：オンライン

出席者：常任理事等9名

5) 部会企画の特別活動

令和2年度に部会の特別活動として実施された事業は以下のとおり。

・芝草部会

「ゴルフ場コース内における芝草類と樹木類の管理技術支援活動」

・大学所有遺伝資源保全・利用研究部会

「東京農業大学教職員および学生向け名古屋議定書対応パンフレット」の作成

4. フォーラムの開催

●第150回フォーラム(主催：東京農業大学総合研究所研究会)

日 時：令和2年10月29日(木)14時00分～15時50分

開催方法：オンライン(LIVE配信)

テーマ：佐々木卓治先生文化功労者顕彰記念オンライン講演会

プログラム：

講演 1. 小林 和人 (福島県立医科大学 医学部 生体機能研究部門 教授)

「行動の学習や機能回復を司る脳内機構：遺伝子改変技術から神経回路解析へ」

講演 2. 新美 輝幸 (自然科学研究機構 基礎生物学研究所 進化発生研究部門／
総合研究大学院大学 生命科学研究科 教授)

「Evo-Devo で探る昆虫の多様性：テントウムシの斑紋とカブトムシの角」

講演 3. 芦刈 基行 (名古屋大学 生物機能開発利用研究センター 教授)

「植物は何故伸びるのか？～イネ科植物の茎伸長における新しいメカニズムの発見～」

挨拶 佐々木 卓治 (東京農業大学 農生命科学研究所 教授)

5. 「東京農業大学総合研究所 紀要 第31号」の刊行

1) 内容：研究所記事として、総合研究所研究会平成31年度事業報告を掲載

2) 発行日：令和2年12月1日

6. 部会活動報告 (32部会)

◆部会名：稲・コメ・ごはん部会

◇部会長：佐々木 卓治 連絡幹事：辻井 良政

◇令和2(2020)年度活動報告

1. 第9回セミナー

日時：2020年10月29日(木) 佐々木卓治先生文化功労者顕彰記念オンライン講演

稲・コメ・ごはん部会長の佐々木卓治先生が令和元年度の文化功労者として顕彰された。佐々木先生は1998年からイネゲノムの塩基配列を解読する国際研究プロジェクトのリーダーとして、世界で初めて作物のゲノムの全塩基配列の解読を行われ、その後もイネをはじめとする作物ゲノム研究への大きな貢献が認められ、今回の受賞となった。佐々木先生がこれまで歩んでこられた研究人生で関わられた3名の先生方にご講演を頂き、佐々木先生の今回の受賞をお祝いしたいと講演会を企画した。稲やコメといった枠にとらわれず、脳科学、昆虫進化学、ゲノム育種学と多彩なご専門の先生方に、ご自身の最先端の研究内容のご発表をお願いした。

場所：オンラインセミナー会場 東京農業大学 農大アカデミアセンター8階 会議室C

(〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1)

記念講演者および演題：

・小林和人先生 (福島県立医科大学 医学部 生体機能研究部門 教授)

行動の学習や機能回復を司る脳内メカニズム：遺伝子改変技術から神経回路解析へ

・新美輝幸先生 (自然科学研究機構 基礎生物学研究所 進化発生研究部門 教授)

Evo-Devo で探る昆虫の多様性：テントウムシの斑紋とカブトムシの角

・芦刈基行先生 (名古屋大学 生物機能開発利用研究センター 教授)

植物は何故伸びるのか？新しいメカニズムの発見

2. 部会員に部会監修の学習参考書の配布

新型コロナウイルス感染流行の影響を受け、感染防止の観点から研究会開催を中止せざるを得なかった。部会員にお伝えできる「稲・コメ・ごはん部会」関連の研究成果がないかと考え、ポプラ社が昨年4月に刊行した「イネ・米・ごはん大百科」を44団体・個人会員に配布した。本書は辻井良政ならびに佐々木卓治が監修した、小学校高学年から中学生向けの、全6巻からなる学習参考書である。内容はポプラ社の宣伝文を借りると「日本の米づくり、流通や販売、歴史、さまざまな米料理まで、お米のことがなんでもわかる決定版！」となっている。詳しい内容は以下のポプラ社のホームページを参照されたい。

<https://www.poplar.co.jp/book/search/result/archive/7215.00.html>

◆部会名：榎本・横井研究部会

◇部会長：杉原 たまえ 連絡幹事：安井 和男

◇令和2(2020)年度活動報告

本研究会では、例年年間2回（夏季・春季）の研究会や講演会などを開催したが、本年度は新型コロナウイルス感染症の影響を勘案し、研究集会は休止とした。榎本・横井両先生の業績や足跡など、会員が個々に調査研究を進めた。

令和2年度は、榎本家より譲り受けた資料全46点について、賞状や勅令など一枚ものを中心に11点を専門業者に依頼して表装・帙作製などを行い、今後の研究・保管に対応できるようにした。

また、研究会の開催については、新型コロナウイルス感染症の影響で今年度は見送ることを会員にお知らせした。

◆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2（2020）年度 活動報告

本研究会の活動概要は、「セミナーの開催などを通じ、情報交換を行い、産官学連携によるおいしさに関する啓発教育を推進する」である。

昨年度、2019年11月15日（金）小田急複合施設「世田谷代田キャンパス」において開催した学外アドバイザー（山野善正：一般社団法人おいしさの科学研究所理事長、川原均：千葉県6次産業化プランナー）共同運営において、『「知」の集積と活用場 おいしさ評価・分析プラットフォーム共同セミナー「最新おいしさ研究」』を開催し、盛会であったことから、共同セミナー等を構想していた。しかし、新型コロナウイルス感染拡大による社会情勢を鑑み、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））の会議および部会長（松本信二氏）への相談と会議報告を行い、2020年度の活動計画の変更および、2021年度の企画会議のみの活動となった。

① 2020年7月22日（水）第1回2020年度の活動について

場所：食品安全健康学科会議室

時間：15：00～

内容：年度内の活動について

② 2021年2月1日～21（日）第2回2020年度の活動および2021年度の企画会議（メール会議）

内容：現状報告と2021年度の方針について

講演会の演者について：味覚・嗅覚・行動心理学にかかわる「おいしさ」に関する研究者に講演を依頼し開催する方針について検討した。

◆部会名：応用微生物部会

◇部会長：鈴木 健一郎 連絡幹事：細田 浩司

◇令和2（2020）年度 活動報告

1. 活動2年目として、部会の方向性を決めるために企画委員会を開催し、アンケートを実施する予定であったが実施できなかった。

2. 外部の公的機関であるの独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)に対して会員として参加してもらうように調整を行い、本部会に入会してもらうことができた。また、本学は同機構とは協定を締結していたが、ちょうど本年度が更新の時期となり、協議の結果協定を継続することができた。同機構は経済産業省所管法人としてさまざまな産業基盤の構築を行っているので、情報提供を受けて令和3年度の活動のセールスポイントとしていきたい。

◆部会名：環境緑化部会

◇部会長：鈴木 誠 連絡幹事：田丸 敬三

◇令和2（2020）年度 活動報告

1. 「(仮称)リカレントスクール・造園・2020」の開催・運営
(造園CPD認定プログラム申請予定)

●メインテーマ：造園の新たな取り組み5題・令和の子年に因み

・第1回：令和2年9月8日（火）

「すべて再デザインの時代ーこれからの造園ー」

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2年10月13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 緑地環境室長 五十嵐 康之 氏
- ・第3回：令和2年11月10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 常務理事 長谷川 清弘 氏
 - ・第4回：令和2年12月8日（火）
「ガーデンドesign専門学校で学ぶ若人」
（学法）湘南みどり学園 日本ガーデンドesign専門学校 副校長 中村 文 氏
 - ・第5回：令和3年1月19日（火）
「海外の日本庭園 その見所を知り 訪ねよう」
元 東京農業大学 地域環境科学部 造園科学科 教授 鈴木 誠 氏

開催場所：東京農大世田谷キャンパス 1号館1F 131教室（予定）

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

※しかし、新型コロナウイルス蔓延の為、学内使用制限や感染拡大防止を考慮し開催を次年度に延期とした。（講師の役職等は計画当時）

2. 「東京農大 緑のフォーラム 2020」の共催（造園CPD認定プログラム申請予定）

令和2年5月17日（日）13：00～16：30 世田谷キャンパス 百周年記念講堂

●MLA Award 受賞者講演

「スタジイの生育に及ぼす土壌の科学性」 丸橋 佳緒里

●第45回造園大賞受賞者講演

①山田茂雄（山田茂雄造園事務所 代表 昭和47年 農業工学科卒）

母畑温泉八幡屋旅館の庭園・「秋田 森のテラス」等土地の力を喚起した造園活動

②山村文志郎 氏（花文造園土木株式会社 代表取締役 昭和46年造園学科卒）

山村 眞司 氏（花文造園土木株式会社 専務取締役 昭和48年造園学科卒）

「近江・鈍穴流花文」の伝統的庭園技法の保存継承と現代の造園事業への応用展開、地域社会・文化への貢献に関する業績

（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2020」」の共催

（造園CPD認定プログラム申請予定）

令和2年5月17日（日）13：00～16：30 世田谷キャンパス 百周年記念講堂

（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）

※2・3とも新型コロナウイルス感染防止のため開催中止、2. の受賞者には後日造園科学科より表彰が行われた。

4. 幹事会、委員会の開催（新型コロナウイルス感染防止のためのメール審議を含む）

令和2年4/3、6/11、7/10、8/17、9/15、11/24、12/11

令和3年2/3、3/22 （開催場所は学内入場制限の為、会員企業の会議室等を拝借）

5. 次年度の組織変更について、次世代に継承すべく組織変更を検討・立案（継続審議）

◆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2（2020）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が不可能であったため、zoomを使用して2020年5月30日および2021年3月18日に実施した。

★セミナー及び講演会については、

①10月上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サイエンスカフェと10月に都内でのきのこ観察会を計画していたが、新型コロナウイルス感染症予防対策を考慮し実施を見送った。しかしながら、きのこ鑑定者として予定していた琉球大学高島幸司教授および秋田県菅原冬樹氏と部会長によるzoomによる意見交換会と次年度以降の計画について協議した。

②8月中旬までに恒例の「きのこを題材とした研究の実験講座」を実施して小中高校生なども含むジ

ユニア科学者の育成支援活動」を実施する予定であったが、本年度も中止とした。

③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

日本きのこ学会および「食と農」の博物館との連携シンポジウムならびにワークショップを企画していたが、日本きのこ学会のイベントは主催者の延期の決定により実施は不可能となった。さらに「食と農」の博物館は入館者を人数限定の予約制として通常会館ではなくなったため、研究部会による来館者へのサービスを意図したイベントの計画は不可能となり中止とした。

★研究部会発行のきのこレシピ集の印刷配布

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発行依頼が寄せられたため、発刊して会員への無料配布と農大サポート、メルカード東京農大への提供を行い、きのこを材料とした啓蒙活動と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、11件と少ない数ではあったが、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、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連絡幹事が対応し、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。

◆部会名：グローバル情報研究部会

◇部会長：立岩 寿一 連絡幹事：武原 タイ

◇令和2(2020)年度活動報告

1. GIA ウェブサイトへのテキスト投稿

R2 4/8 新型コロナとグローバリゼーション タイ武原

R2 4/11 新型コロナを考える

・生命×平等 タイ武原

・緊急事態宣言から問うーGIA(Global Information Association)の視点 板垣啓四郎

R2 4/18 ウイルス側から考えてみた タイ武原

R2 4/19 カリフォルニア通信 塙健

R2 4/28 東京の飲食店がコロナに打ち勝つランチェスター戦略 秋丸剛志

R2 5/7 新型コロナウイルス感染症で社会がどのように変わるのか? 大西章博

R2 9/6 新型コロナウイルス終息に向けて 佐々木健雄

R2 9/28 菅政権の誕生とわが国農業の方向 板垣啓四郎

R3 2/20 コロナパンデミックのなかでグローバルフードバリューチェーンはどう動くか?
板垣啓四郎

R3 3/11 日本政府による農産物輸出政策がもたらすもの 大門龍博

R3 3/12 上野裕治の阿蘇レポート(1) 上野裕治

R3 3/13 3.11に想う 鎌塚俊徳

R3 3/18 あれから10年 タイ武原

R3 3/26 Green & Global タイ武原

2. 第4回GIA コラボ ウェビナー実施 (R3 3/24)

GIA×バイオマス・資源・エネルギー研究部会

Global Action for SDGs by Bio Technologies 「微生物と人間社会の関係性」

参照：<http://gia-nodai.com/%EF%BB%BFgreen-&-global/> (YouTube 動画)

◆プログラム

10:00~10:10 コラボウェビナー概要について

10:10~11:00 発展途上国における下水処理・エネルギーの問題解決が期待される微生物燃料電池技術 TOUCH Narong (生産環境工学科)

11:00~11:50 海洋におけるプラスチック生分解特性解明への挑戦
西野 康人 (海洋水産学科)

- 11：50～12：20 ワイン醸造・バクテリオファージセラピー・水素エネルギーに関する共同研究
について 大西 章博（醸造科学科）
- 12：20～12：30 総括

◆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2（2020）年度 活動報告

活動を見合わせ、部会の課題について検討した結果、新しい昆虫機能利用の部会（名称も変更）に移行することとした。

◆部会名：沙漠緑化研究部会

◇部会長：豊田 裕道 連絡幹事：鈴木 伸治

◇令和2（2020）年度 活動報告

【幹事会】

【令和元年度活動報告会および令和2年度定時総会】

【講演会】

上記3項目について、新型コロナウイルスの感染予防に伴い東京都で緊急事態宣言が発令されたため、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）の申請に向けた諸活動の支援】

本研究部会のメンバーの多くが参加している SATREPS プロジェクトの申請について、研究部会として支援を行った（主に情報提供）。

現地研究者とリモートで情報交換を行った。

【その他：JICA カウンターパート研修生受入れ支援など】

特になし。研修生の受け入れについては、依頼・要請がなかった。

◆部会名：GIS 研究部会

◇部会長：鈴木 充夫 連絡幹事：畑中 勝守、下嶋 聖

令和2（2020）年度 活動報告

1. 幹事会の開催：2020年5月、6月、10月にオンライン&メールで開催した。

2. 第13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した。

① 開催日時：2020年11月6日（金） 13：00～17：00 （入場は12：30～）

② 会場：オンライン開催（Zoom利用）

③ 主催：東京農業大学総研研究会 農業協同組合研究部会・GIS 研究部会

④ シンポジウムの主題：デジタル新時代における JA グループにおける組合員・組合員組織の次世代継承を重視した“多様な農業経営基盤創造”の再構築－農産物地域ブランド、フードシステムの再構築、次世代型営農支援事業を中心として－

⑤ プログラム

第1報告「デジタル新時代における JA グループにおける組合員・組合員組織の次世代継承を重視した“多様な農業経営基盤創造”の再構築－農産物地域ブランド、フードシステムの再構築、次世代型営農支援事業を中心として－」 白石正彦（東京農業大学 名誉教授、総研研究会農業協同組合研究部会長）・原温久（東京農業大学 国際食料情報学部准教授）、望月洋孝（東京農業大学 国際食料情報学部助教）、菊地哲夫（東京農業大学客員教授）

第2報告「東京農大包括連携協定を基本とした次世代型営農支援事業へのチャレンジ－東京農大・パスコ・JA の連携を目指して－」 鈴木充夫（東京農業大学 客員教授、GIS 研究部会長、(株) 協同経済経営研究所所長）

第3報告「長野県 JA 中野市における組合員・組合員組織の次世代継承を重視した“多様な農業経営基盤創造”の再構築－農産物地域ブランド、フードシステムの再構築、次世代型営農支援事業を中心として－」 望月隆（長野県 JA 中野市組合長）

第4報告「静岡県 JA しみずにおける組合員・組合員組織の次世代継承を重視した“多様な農業経営基盤創造”の再構築－報徳思想、農産物地域ブランド、フードシステムの再構築、次

世代型営農支援事業を中心として」 柴田篤郎 (JA しみず組合長)
第5報告「大学・民間企業と連携した愛知県 JA あいち豊田の次世代型営農支援事業への取り組みと課題」鈴木裕志 (JA あいち豊田営農経済部課長)

参加者：約40名 (事務局を含む)

3. 包括連携協定 (東京農大&㈱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
スマート農業普及のために、JAにおけるICTを活用した新しい営農指導メソッド開発のための技術者と現場担当者のためのワークショップ型研究会を、2021年3月17日 (水) 13:00から17:00から、㈱パスコ本社で、JA佐賀 (濱野克錦)、JA唐津 (井本克彦)、JAあいち豊田 (鈴木裕志) を対象に実施する予定だったが、コロナの緊急事態宣言の発出のため中止し、解除が明けた3月25日、26日にJA佐賀において、鈴木充夫GIS研究部会長、望月貫一朗㈱パスコ副部長、河野誠忠㈱パスコ主任が現地に出張し、研修会を実施した。

◆部会名：芝草部会

◇部会長：高橋 新平 連絡幹事：大橋 邦雄

◇令和2 (2020) 年度 活動報告

■第1回研究会 (伊香保カントリークラブにおける日照環境調査研究への支援)

伊香保カントリークラブのコース、特にグリーン周辺とティーグラウンド周辺には記念樹の植樹によって長い年月育成されてきた。その結果年々の成長に伴い日陰が発生しグリーンやティーグラウンドの芝草に悪影響 (日照不足による成長抑制) を及ぼしていた。東京農業大学造園科学科の調査チームが魚眼レンズによる日照環境調査を実施することに対し、芝草研究会として調査のためのコース案内、日程調整、コース内へのカート乗り入れ許可等を行い調査支援を行った。なお、伊香保カントリークラブのコース管理理事、代表取締役の役職にある方々も会員であることから支援が可能となった。

日照環境調査結果については東京農業大学グリーン研究会会報 (第37号 (2020年12月発行)) に報告し日照管理計画やコース周辺に生育する高木類の伐採など管理への提案や示唆があった。(報告内容:伊香保カントリークラブにおけるコース (ティー・グリーン) 内の太陽光可照時間と植栽管理, 東京農業大学地域環境科学部造園科学科, 巻島 (H30卒)・高橋 (担当)) ※1

■第2回研究会 (夏季現地視察とセミナーの開催) 参加者:37名

(2020年度活動計画では夏季の計画であったが実際には秋季活動となったことを注記)

A. 現地視察報告

日時：2020年11月27日 (金) 8:00～ 場所：都賀カントリー倶楽部 北・西コース

内容：①東京農業大学グリーン研究会会員と総合研究所研究会芝草部会会員による合同のコース視察

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)

B. 現地セミナー報告

日時：2020年11月27日 (金) 13:30～ 場所：都賀カントリー倶楽部

内容：①「雑草対策と新薬開発状況」宇都宮大学教授 小笠原 勝氏

②「土作りに役立つ簡易な土壌分析法」千葉県生涯大学校教授 大橋幸男氏

■第3回研究会 (特別研究会開催報告) 参加者:35名

日時：2021年2月25日 (木) 14:00～

場所：伊香保カントリークラブ

内容：「冬期グリーン管理技術検討会」東京農大・造園科学科教授 高橋新平氏
冬季におけるグリーンを構成する

■芝草研究部会員 (コアメンバー) によるコース管理技術支援

芝生育成資材の試験ならびにヨード水の芝生病害に対する効果試験の支援

部会会員がこの2つの効果試験を実施し現在も継続しており、まとまった成果はまだ時間を要する状況である。このヨード水の効果に係る検証状況を部会会員相互の技術的視点からの協力を継続している。

■日本芝草学会への活動支援について

日本芝草学会内には4つの研究部会があり各部会の活動に対する支援を昨年予定した。

しかし、2020年度のコロナ禍により学会活動も大きな制限をうけて活動を支援する状況には至

らなかった。

■特別活動報告

- ①ゴルフ場コースの樹木による日陰環境実態とその改善
第1回研究会の中で実施し、東京農業大学グリーン研究会会報(第37号(2020年12月発行))にその成果を報告した。^{*1} 経費支出はなかった。
- ②土壌微生物を活用したコース内土壌の技術管理(千葉県内・茨城県内)
実験レベルでは③のような成果が得られているが、ゴルフコースでの検証には至らなかった。コロナ禍であり現地試験が困難であったため断念した。従って経費支出もなかった。
- ③ヨード水(地下水)のゴルフコース管理への活用可能性
現在殺菌効果の検証成果が得られている。(千葉県内)
コロナ禍のため当初の計画を断念し、会員コアメンバーのみで小規模に実験を実施した。千葉県立生涯大学梅本先生の支援によって検証した。なお、謝金・交通費の支出はなく実験用消耗品費を支出した。

◆部会名：就農者推進教育研究部会

◇部会長：平野 繁 連絡幹事：小池 安比古

◇令和2(2020)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】2021年1月12日(火) 13:30～15:30

【場 所】オンライン実施 (zoom)

【参加者】10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 7人 やや満足 3人)

②今後への役立ち度 100% (満足 7人 やや満足 3人)

【アンケートフリーコメント (一部抜粋)】

- ・改めて、積極的に自分から話していくことが重要だなと感じました。一度も話したことのない方々と話すことができ良かったです。
- ・自分から声を出せたので、自分への自信につながった。ただ、司会をすることでいっぱいになってしまったので周りのことを上手く生かして進行できるようになりたい。
- ・初対面の人も顔を合わせてコミュニケーションを取ることが出来、自分の欠点やどのように克服すれば良いかを知ることが出来たため。

【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識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10名と少なかったが、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2(2020)年度活動報告

1. 第10回部会総会の開催

議題1) 令和元年度活動報告、2) 令和2年度活動(案)について書面にて報告を行った。

2. 第10回講演会の開催

コロナ禍に伴い、中止にした。

3. 第10回研修会(工場見学会)の開催

コロナ禍に伴い、中止にした。

4. 幹事会の開催

1) 令和2年度第1回幹事会(第25回)の開催

(新型コロナウイルス感染拡大防止に伴う)

令和2年5月29日(金)14:00～ オンラインミーティング

① 令和元年度活動報告

② 令和2年度総会および講演会の開催について

③ 令和2年度研修会について

④ その他

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)、前橋健二(学内) 以上7名にて行った。

2) 令和2年度第2回幹事会(第26回)の開催

(新型コロナウイルス感染拡大防止に伴う)

令和2年10月29日(金)10:30～ オンラインミーティング

① 令和2年度活動についての意見交換

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)、前橋健二(学内) 以上7名にて行った。

3) 令和2年度第3回幹事会開催(第27回)の開催

(新型コロナウイルス感染拡大防止に伴う)

令和3年3月16日(火)、15:00～、オンラインミーティング

① 令和2年度活動について

② 令和3年度の活動(総会、講演会、研修会)について

出席者; 館博部会長、茂木浩介(学外)、松本秀樹(学外)、松本浩明(学外)、小島賢(学外)、穂坂賢(学内)、門倉利守(学内)、前橋健二(学内) 以上8名にて行った。

5. 親睦会の開催

コロナ禍に伴い、中止にした。

6. その他

海外食品工場視察

コロナ禍に伴い、中止にした。

◆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2(2020)年度活動報告

令和2年度のスタートに当たり、例年通り東京農業大学「食と農」の博物館のセミナールームにおける毎月2回の勉強会「食材の寺小屋」の開催と年1～2回の現地勉強会「出前講座」を予定していたが、コロナの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やむなく中止した。

状況を注視した上で秋に次の講座2回を開催した。

① 令和2年9月15日 「人生100年時代の食事術・実践編」

講師: 堀江ひろ子さん(料理研究家)

会場: 日本記者クラブ内大会議室

参加人数: 42名

② 令和2年11月21日 「気候変動と私たちの食卓」

講師: 山本良一さん(東京大学生産技術研究所 教授)

会場: 東京農業大学 「食と農」の博物館 セミナールーム

参加人数：11名

◆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2（2020）年度 活動報告

1. 幹事会

・令和2年5月14日

令和2年度活動企画案の検討

・令和2年9月15日

研究会開催案の検討

・令和3年3月29日

令和2年度活動報告についての打合せ及び令和3年度の活動企画案の検討

2. 活動報告

(1) 当初計画

・現地検討調査

目的：農村の震災復興と防災技術の役割に関する現地検討

場所：岩手県、宮城県、福島県

期日：令和2年8月・9月（予定）

・研究会開催

テーマ：農村の震災復興における防災技術の新たな展開

期日：令和2年12月（予定）

(2) 活動結果

当初の計画において、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調査を岩手県、宮城県、福島県を対象に8月と9月に予定していたが、新型コロナウイルス対策の影響を受けて中止した。このことから、12月に予定していた研究会の開催を見合わせた。

当初計画していた現地検討調査を中止したことから、令和2年度は以下の通り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、福島県農林水産部

・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を行った。また、各機関に所属する本学卒業生に対して事業の実施状況に関する情報収集を行うとともに令和3年度における研究会開催の計画を説明し、講演についての協力依頼を行った。

◆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2（2020）年度 活動報告

【年間イベント】

(1) 第3回シンポジウムの開催

日時：2020年12月4日（金）13時から、12月16日13時から追加分

開催方式：Zoomによるオンライン開催（12月4日）、録画配信（12月16日）

参加費：無料（事前登録必須）

概要：

2018年6月に公布された改正食品衛生法は、国際整合性をにらんだ大幅な改正で、食の安全と安心部会では、その詳細について第1回シンポジウムを開催し、情報提供を行った。特に国内のHACCPの制度化は今後の食品のリスクマネジメントに与える影響は甚大であると思われる。この法律は、2020年6月に施行されたが、HACCPの制度化等に関してはリスクマネジメントの主体である地方自治体の条例の整備や民間の食品取扱業者の条例への対応などの猶予期間を挟んで、2021年6月に本施行となる。第3回のシンポジウムでは、改正食品衛

生法の公示から後、本施行の間にどのような行政的な準備が進められているのかを整理した後、食品衛生指導員の立場から民間の食品取扱者は HACCP の制度化にどのように対応すべきか、また流通及び食品事業者の現状と今後の課題について情報提供をいただき、HACCP 制度化への理解を深めることを目的とした。

一般参加者 12月4日 登録者 489名、参加者 393名
12月16日 登録参加者 120名
農大関係者 11名、農芸化学科 159名、栄養科学科 240名、
食品安全健康学科 151名
計 1,074名が参加した。

【会議】

(1) 部会運営会議

5回開催し、令和2年度の活動方針と第3回シンポジウムの開催とその内容を総括した。

6月25日・・・本年度の活動方針の確認

7月27日・・・シンポジウム開催を検討

8月19日・・・シンポジウム開催方法と演者の検討

9月16日・・・シンポジウム開催方法と広報の検討

11月17日・・・シンポジウム開催方法の最終確認

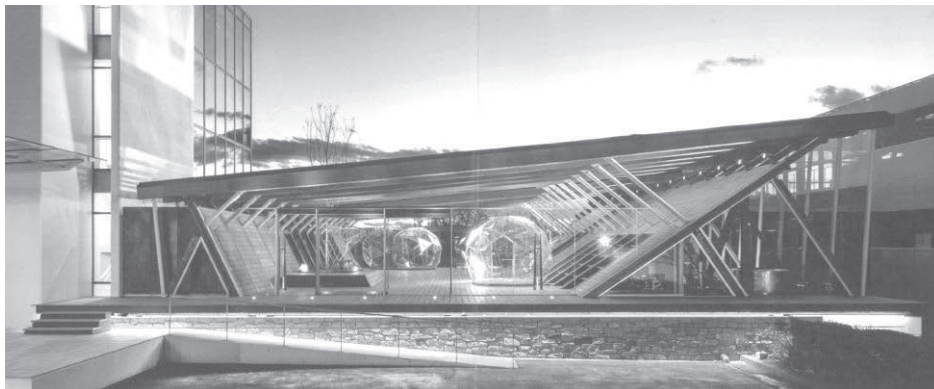
◆部会名：植物工場研究部会

◇部会長：山中 宏夫 連絡幹事：小野瀬 淳一

◇令和2(2020)年度 活動報告

次世代育種研究棟 検討委員会への出席(月1回、～2020年9月まで) 実施計画を協議

施設見学会【コロナ禍により中止】(2020年9月 神奈川県横浜市戸塚区名瀬町344-1 大成建設株式会社技術センター新エントランス、検討委員メンバー出席予定) ※ドーム型温室を実装



◆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2(2020)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3月5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。

資料の収集および聞き取り調査を実施したが、完成までは至らなかった。

○奥多摩演習林における間伐地の資料収集

○奥多摩演習林における間伐地の測定

○素材生産業者、森林組合、製材業者、加工業者への聞き取りを行った。

2) 三重県尾鷲地方における森林、林業の現状と課題についてセミナーを実施する。

2019年に研究会予算で調査した内容でセミナーを実施する予定であったが、コロナ禍で調査

や開催準備が不十分であったことで実施できなかった。調査した内容については、一部を学会で報告するにとどめた。

川端俊介他（2020）足場丸太生産の現状—三重県紀北町を事例に一、関東森林学会要旨集

3) 森林文化に関連する資料作成、共同セミナーの開催など

○準備不足のため共同セミナーを実施できなかった。

○森林文化に関連する学会報告を行った

・Takayoshi SATO, Christian P. KOLONEL, and Opoku Boamah NEIL CAMPBELL (2021)

Comparative study of forest culture measurement between Tanzania and Japan, 日本熱帯農業学会第129回講演会

4) その他

○研究部会で作成した資料を活用した。

・フレッシュマンセミナーで研究部会にて作成した「農大アカデミアセンターに使用されている木材の魅力」を配布し、案内を行った。

・専攻実験演習で奥多摩演習林を活用した際に、「東京農業大学奥多摩演習林資料館の魅力」のリーフレットを活用した。

◆部会名：生物的防除部会

◇会長：河津 圭 連絡幹事：足達 太郎

◇令和2（2020）年度 活動報告

I 広報事業

① 講演会の開催：農業病害虫の生物的防除などに関連する講演会をwebにて2回開催

・第1回（2020/12/17）

演題1「カンキツ園における広食性カブリダニを利用したミカンサビダニの総合的防除」
静岡県農林技術研究所果樹研究センター 土田 祐大 氏

演題2「CBC株式会社の欧州におけるBiocontrol事業の歩みと今後の課題」
CBC株式会社 森 アリアンナ 氏

・第2回（2021/2/24）

演題1「ダイズシストセンチュウの新規生物的防除法の紹介」
東京農工大学 豊田 剛己 氏

演題2「中国モウソウチクにおけるスゴモリハダニの被害とバンカープラントの意義」
北海道大学名誉教授 齋藤 裕 氏

演題3「施設栽培で利用できるアブラムシ類天敵製剤の開発と利用法」
㈱アグリ総研 伊藤 健司 氏

演題4「IPMと薬剤抵抗性対策を踏まえた上手な病害虫防除」
日本曹達㈱ 生物的防除部会副会長 山本 敦司 氏

② 生物的防除部会ニュース発行

71号、72号 ペーパーレス化を実施 印刷物を郵送（約20件）

③ ホームページの管理運営：ニュースレターのバックナンバーをホームページに掲載

http://www.ipm-bio.jp/bukai_news.html

II 情報収集および交流事業

① 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（10/15、12/17、2/19）

講演会の演者選定、会則の改定など

② 総会：Web検討、承認（6/16回答締切）

1) 2019年度事業報告および会計報告、監査報告

2) 2020年度事業計画案および予算案

3) 会則改正について

4) その他

◆部会名：生命科学研究部会

◇部会長：角谷 直人 連絡幹事：太治 輝昭

◇令和2（2020）年度 活動報告

・幹事会開催：年1回

第1回幹事会

日時：2020年11月16日

・講演会開催

佐々木卓治先生 文化功労者顕彰記念オンライン講演会

稲・コメ・ごはん部会、総合研究所研究会と共催した。

日時：2020年10月29日14：00～16：00

3人の先生方に講演していただき講演会は大盛況であった。

生命科学研究部会のオンライン講演会

講演内容：自閉スペクトラム症患者に生じている遺伝子突然変異が脳の発達や社会性活動に異常をもたらす分子メカニズムの解析

講師：東京農業大学生命科学部バイオサイエンス学科 中澤 敬信 教授

日時：2020年12月10日（木）16：20～17：50

Zoomでの参加者：112人

自閉症の分子メカニズムに関する講演であったが分かりやすい興味深い内容であったため、分野の異なる先生方や学生にも理解できて好評であった。

◆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2（2020）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

2020年度は、講演会を開催予定であったが、講演者の都合がつかず未開催となった。

3. 大学所有遺伝資源保全・利用活動

宮古亜熱帯農場と連携・協力してタロイモ遺伝資源200点およびヤマイモ遺伝資源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。先島諸島の雑穀（アワ・キビ）在来品種の収集・増殖を実施した。

4. 特別活動

2020年度に「東京農業大学教職員および学生向け名古屋議定書対応パンフレット」の作成を予定していたが、ABS関連の情報収集不足および執筆遅延により発行できなかった。部会として『東京農業大学 遺伝資源の取得及び利益の公正衡平な配分に関する管理規程』を定めることに協力した。

◆部会名：地域再生研究部会

◇部会長：宮林 茂幸 連絡幹事：町田 怜子、栗田 和弥、柴田 和也

◇令和2（2020）年度 活動報告

活動内容：

① 分科会（幹事会・会議に相当）の開催

分科会はzoomと対面のハイブリット型で開催をした。また、会議はメール審議を継続し、研究会の活動を継続した。「地域資源の利活用方策について」と「里山の環境保全と活用方策」、「地元報告会・講演会について」は、2021年3月17日（水）に「トンボの里づくりプロジェクト」として地域住民と関係者間の最少人数で実施した。「ワークショップ」は新型コロナウイルス感染拡大防止のため中止した。

② 『湘南ひらつか・ゆるぎ地区』活性化に向けたフォーラム（セミナーに相当）の開催

コロナ禍のため実施はできなかったが、『湘南ひらつか・ゆるぎ地区』活性化に向けたフォーラム（セミナー）に展開できるように、④地域再生研究部会のフォーラムを企画した。

③ 2020年10月から12月に予定していたセミナー・ワークショップ等の開催は、新型コロナウイルス感染拡大防止のため中止した。

④ 地域再生研究再生部会 フォーラムの開催

2021年3月13日に、農村計画研究部会と地域デザイン学会と企画、運営開催を協働し、地域再生研究部会の合同フォーラムとして第7回農業文化フォーラムをオンライン開催した。

2020年度の地域再生研究部会は、コロナ禍という異常事態において、神奈川県平塚市ゆるぎの里における実践的研究会・分科会を中止とならざるを得なかった。そこで、コロナ禍の地域問題の議論を深めるために、農村計画研究部会と地域デザイン学会と企画、運営開催を協働し、合同フォーラムを開催した。フォーラムの総合タイトルは、「コロナ禍における農山村交流や農林業の現状と課題について」とした。まず、基調講演として、東海大学教授田中伸彦氏から「新しい農山村移住と観光レクリエーション」と題して、今まで六次産業化や1.5次産業化として取り込まれてきた農山村の観光交流事業の実態とコロナ禍における農山村における観光レクリエーションの方向について報告。さらに、事例報告として、①茨城県阿見町の浅野裕治氏並びに東京農業大学地域創成科学科4年生岸本ひかり氏（卒業論文の成果）から阿見町の竹による地域づくりの事例報告があった。次に②群馬県川場村副村長宮内実氏並びに東京農業大学地域創成科学科4年生松永遥氏（卒業論文の成果）から世田谷区と川場村の交流40年の成果とこれからの40年について報告された。さらに③福岡県八女市の栗原悠次氏と東京農業大学国際食料情報学部大久保研治准教授よりコロナ禍における中山間地域農林業の現状について報告があった。コロナ禍における農山村の現状について報告がされ、その後、「ニューノーマル時代における農山村のあり方（地域デザイン）」と題して、東京農業大学地域環境科学部の入江彰昭准教授をコーディネーターに、基調講演者と報告者に東京農業大学宮林茂幸教授が加わりディスカッションが行われ、そのあと、東京農業大学地域環境科学部町田怜子准教授から総合コメントが行われた。農山村の持続的で、循環型のレジリエントな（復元力のある）働き方や暮らし方は、コロナ禍における新たな生活様式へのヒントや期待があり、これからの交流事業や地域づくりに期待される地域デザインとして位置付けられることなどが議論された。本フォーラムでは、コロナ禍がもたらした農山村の新たな局面についての現状認識を踏まえ、農山村と都市部を結ぶ新たなつながり・交流を核とした関係人口、地域づくり、そのための地域デザイン等のあり方について議論を深めた。

⑤ 湘南ひらつか・ゆるぎ地区ワークショップ等における支援

コロナ禍により対面での支援は実施できなかったため、メール審議により委員会内で意見交換を行った。

◆ 部会名：地域連携推進研究部会

◇ 部会長：水庭 千鶴子 連絡幹事：秋山 聡子

◇ 令和2（2020）年度 活動報告

昨年度に引き続き、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、コロナの影響により開催できなくなってしまった。

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、茨城県阿見町が開発したレンコンパスタを用いた家庭料理レシピを考案し、パスタ製造元の新井製麺の取引店舗とJA水郷つくばの本店直売所にてパスタと合わせて常設することで、レンコンパスタのPRを図ることができた。

◆ 部会名：農業協同組合研究部会

◇ 部会長：白石 正彦 連絡幹事：堀部 篤

◇ 令和2（2020）年度 活動報告

1. 幹事会の開催：令和2年5月、6月、10月に開催。

2-1. 第13回シンポジウムの開催：コロナ禍で3密を避けるため令和2年11月6日（金）に東京農業大学世田谷キャンパス・国際食料情報学部にオンライン・シンポの事務局を置き、「JAグループにおける組合員・組合員組織の次世代継承を重視した“多様な農業経営基盤創造”の再構築—農産物地域ブランド、フードシステムの再構築、次世代型営農支援事業を中心として—」をテーマに、総研研究会農業協同組合研究部会・GIS研究部会の主催でシンポジウムを

開催した。

第1報告「JA グループにおける組合員・組合員組織の次世代継承を重視した“多様な農業経営基盤創造”の再構築—農産物地域ブランド、フードシステムの再構築、次世代型営農支援事業を中心として—」：白石正彦（東京農業大学 名誉教授、総研研究会農業協同組合研究部会長）、原温久（本学准教授）、望月洋孝（本学助教）、菊地哲夫（本学元教授）

第2報告「東京農大包括連携協定を基本とした次世代型営農支援事業へのチャレンジ—農大・パスコ・JA の連携を目指して—」：鈴木充夫（東京農業大学 客員教授・総研研究会 GIS 研究部会長・株） 協同経済経営研究所所長

第3報告「長野県 JA 中野市における組合員・組合員組織の次世代継承を重視した“多様な農業経営基盤創造”の再構築」：望月隆（長野県 JA 中野市代表理事組合長）

第4報告「静岡県 JA しみずにおける組合員・組合員組織の次世代継承を重視した“多様な農業経営基盤創造”の再構築」：柴田篤郎（JA しみず代表理事組合長）

第5報告「大学・民間企業と連携した愛知県 JA あいち豊田の次世代型営農支援事業への取り組みと 課題」：鈴木裕志（JA あいち豊田営農企画課長）

コメンテーターは、谷口信和（東京農業大学名誉教授）、比嘉政浩（JCA 日本協同組合連携機構・代表理事専務）、堀部篤（東京農業大学国際食料情報学部准教授）、船田寿夫（長野県 JA 子会社信州うえだファーム常務取締役）が担当。その後、一般討論を行った。

- 2-2. 本学の国際食料情報学部にオンライン・シンポの事務局を置き第7回シンポジウムの開催：令和2年10月23日（金）に「農業者・農協等関係団体の連携強化による農業労働安全・労災補償対策の実践—GAPを中心に」をテーマに、シンポジウムを総研研究会（農業協同組合研究部会、労災対策研究部会、就農者推進教育研究部会の3研究部会）、日本農業労災学会が連携して開催した。①第1報告「農業分野における農業者・関係者参加型の労働災害防止の方法—GAPを中心に—」門間敏幸（東京農業大学名誉教授）、②第2報告「グローバルGAPの団体認証取得によるブロッコリーのブランド化と労働安全対策について」菅野史拓（岩手県宮古農業改良普及センター）、③第3報告「女性農業者との農業機械開発と安全対策」野口貴弘（井関農機株式会社販売企画推進部）、④第4報告「JAたじま『コウノトリ育むお米』のグローバルGAPの取り組みについて—ブランド化、労働安全対策を含む—」谷垣 康（兵庫県 JA たじま 但東営農生活センター センター長）、⑤第5報告 「農業労働安全拡充・労災補償対策のための社労士による参加型取り組み」中村 雅和（いのしし社会保険労務士事務所 所長）、コメンテーター 安江紘幸（農研機構 東北農業研究センター 主任研究員）・武田敏幸（JA 全農 耕種総合対策部 GAP 推進課 課長）・木山 恭子（社会保険労務士法人たんぼぼ会 所長）、宮永均（JA はだの 専務理事）。農業協同組合研究部会では部会長の白石が企画段階から参画し、農協の役割發揮について論議を深めた。

- 2-3. 国際農業農村協同組合学会（The International Society for Agricultural and Rural Co-operative Studies）第5回大会（欧米・アジア・アフリカの研究者が会員）を、令和2年秋季に中国・青島農業大学合作社学院で開催予定であったがコロナ禍で延期し、白石部会長は本学会の会長としてシンポジウムで基調研究報告を実施できなかった。

◆部会名：農業生産工程管理（GAP）研究部会

◇部会長：入江 憲治 連絡幹事：齋藤 修平

◇令和2（2020）年度 活動報告

1. 幹事会の開催：3回

第一回幹事会 2020年6月10日

第二回幹事会 2020年10月9日

第三回幹事会 2021年2月10日

2. 講演会の開催（中止）

日時：2020年12月4日

セミナータイトル：日本発の国際GAP認証となったASIAGAPの今後の展望

目的：日本発の国際GAP認証となったASIAGAPの国際認証になるまでの経緯と、これからの日本を含めたアジアでの展開について、理解することを目的とする。

講演内容

(講演 1)

講演者：萩野 宏 (一般財団法人GAP協会 事務局長)

演題：「日本における JGAP、ASIAGAP の普及進展と ASIAGAP の海外戦略」

主催：東京農業大学総合研究所研究会 農業生産工程管理 (GAP) 研究部会

*コロナウイルス蔓延により、先方との協議の上、中止とした。

3. その他

2019年度に東京五輪・パラリンピックに向けて実施した「G.A.P 食材を使ったおもてなしコンテスト」(内閣府東京オリンピック・パラリンピック推進本部事務局主催)に、本部会から助成し応募したヤムイモを活用した料理「ヤムイモの宮古牛包み焼きクレソン添え」が事務局長賞を受賞した。2020年9月9日には、橋本聖子東京オリンピック・パラリンピック担当大臣(現東京五輪・パラリンピック組織委員会会長)の意見交換会にて、その内容のプレゼンテーションを行った。

◆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2(2020)年度 活動報告

●第7回農業文化フォーラム

(2021年3月13日(土) 14:30~17:30 YouTubeによるオンライン形式)

2020年度の農村計画研究部会は、コロナ禍という異常事態における農山村の現状と都市と農村交流の現状を踏まえ、ニューノーマル時代における交流の課題について議論することを目的に地域再生研究部会並びに地域デザイン学会農業文化フォーラムと合同によるフォーラムを開催した。なお、フォーラムの総合タイトルは、「コロナ禍における農山村交流や農林業の現状と課題について」とした。フォーラムでは、基調講演として、東海大学教授田中伸彦氏から「新しい農山村移住と観光レクリエーション」と題して、正に、今まで六次産業化や1.5次産業化として取り組まれてきた農山村の観光交流事業の実態とコロナ禍における農山村における観光レクリエーションの方向について報告された。さらに、事例報告として、①茨城県阿見町の浅野裕治氏並びに東京農業大学地域創成科学科4年生岸本ひかり氏(卒業論文の成果)から阿見町の竹による地域づくりの事例報告があった。次に②群馬県川場村副村長宮内実氏並びに東京農業大学地域創成科学科4年生松永遥氏(卒業論文の成果)から世田谷区と川場村の交流40年の成果とこれからの40年について報告された。さらに③福岡県八女市の栗原悠次氏と東京農業大学国際食料情報学部大久保研治准教授よりコロナ禍における中山間地域農林業の現状について報告があった。コロナ禍における農山村の現状について報告がされ、その後、「ニューノーマル時代における農山村のあり方(地域デザイン)」と題して、東京農業大学地域環境科学部の入江彰昭准教授をコーディネーターに、基調講演者と報告者に東京農業大学宮林茂幸教授が加わりパネルディスカッションが行われ、そのあと、東京農業大学地域環境科学部町田怜子准教授から総合コメントが行われた。農山村の持続的で、循環型のレジリエントな(復元力のある)働き方や暮らし方は、コロナ禍における新たな生活様式へのヒントや期待があり、これからの交流事業や地域づくりに期待されるデザインとして位置付けられることなどが議論された。こうした新たな交流は、これまでの資本主義的生産関係にあった合理化による分業化・大量生産による大量消費型をモデルとする見方から、生業環境や生産関係を社会的共通資本や社会的協働としてとらえ、生産・加工・流通・消費が統合した交流社会による循環シェアリング型をモデルとする見方へのパラダイムシフト(新たな地域デザイン)が示唆された。本フォーラムでは、コロナ禍がもたらした農山村の新たな局面についての現状認識を踏まえ、農山村と都市部を結ぶ新たなつながり・交流を核とした関係人口、地域づくり そのための地域デザイン等のあり方について議論を深めた。

なお、フォーラムのプログラムは、次のとおりであり、オンラインによって行われた。

- 14:40~15:10 基調報告 「新しい日常における農山村移住と観光レクリエーション」
東海大学観光学部教授 田中伸彦先生
- 15:10~15:30 事例1 「茨城県阿見町君島地区の竹林の現状と活用」
阿見町役場農業振興課 浅野裕治氏
- 15:30~15:50 事例2 「世田谷区との交流40年とコロナ禍の交流に思う」

- 川場村副村長 宮内実氏
- 15:50～16:10 事例3 「福岡県八女市矢部村における農林業の現状」
東京農業大学国際食料情報学部 准教授 大久保研治・
栗原製茶 栗原悠次氏
- 16:20～17:10 パネルディスカッション「ニューノーマル時代における農山村の地域デザイン」
コーディネーター 入江彰昭
パネリスト 宮林茂幸、田中伸彦先生、浅野裕治氏、大久保研治、宮内実氏
- 17:10～17:20 コメント 東京農業大学 町田怜子

◆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2（2020）年度 活動報告

会議

総会：令和2年5月29日（金）オンライン

幹事会：第134回（令和2年5月29日）オンライン

第135回（令和3年3月5日）オンライン

総会特別講演会

令和2年8月21日（金）オンライン 参加者96名

『農薬に関する新聞等報道への農薬工業会の対応』 廣岡 卓氏（農薬工業会事務局長）

賀詞交歓会

令和3年1月22日（金）オンライン 参加者39名

「An overview of pesticides in Asia - opportunities and regulatory landscape」

Vasant L Patil, PhD. (Director - Science & Regulatory Affairs CropLife Asia, Singapore)

意見交換会

1. 私と農薬部会 山本 出氏（東京農業大学名誉教授）

2. コロナ禍を経営改革の糧としよう 小林 昭雄氏

((株) 国際マネージメントサポート代表取締役)

部会セミナー（オンライン）

第117回：令和3年2月19日（金） 参加者76名

「自然栽培の標」 藪田 秀行氏（(株) やぶ田ファーム代表）

「新規殺菌剤ジクロベンチアゾクスの生物活性」 大高 伸明氏

(クミアイ化学工業(株) 生物科学研究所病害防除研究室主任)

第118回：令和3年3月5日（金） 参加者94名

「新規殺虫剤シクラニプロールの生物活性」 藤井 聡子氏

(石原産業(株) 中央研究所生物科学研究室)

「わが国で近年注目されている病害虫」 古畑 徹氏

(農林水産省 消費・安全局 植物防疫課防疫対策室長)

◆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2（2020）年度 活動報告

1. 共催フォーラムの実施

共催フォーラムの実施

第7回農業文化フォーラム

東京農業大学総合研究所研究会 バイオビジネス研究部会・農村計画研究部会・地域再生研究部会

地域デザイン学会

① 開催日時 2021年3月13日（土） 14:30～17:30 YouTubeによるオンライン形式で実施

② フォーラムテーマ 「コロナ禍における農山村交流を核とした地域デザイン」

コロナ禍における農山村交流や都市農業の現状と課題について議論を行った。農山村をこれまでの分業化・消費型のモデルとする見方から、生業環境を社会的共通資本としてとらえ、生産・加工・流通・消費が統合しかつ循環シェアリング型のモデルとする見方へのパラダイムシ

フトを示唆され、農山村と都市部を結ぶ新たなつながり・交流を核とした関係人口、地域デザインのあり方について議論を深めた。

③ プログラム

開会の挨拶とフォーラムの主旨説明

東京農業大学 入江彰昭

新しい日常における農山村移住と観光レクリエーション

東海大学 田中伸彦

茨城県阿見町君島地区の竹林の現状と活用

阿見町役場農業振興課 浅野裕治

福岡県八女市矢部村における農林業の現状

東京農業大学 大久保研治, 栗原製茶 栗原悠次

世田谷区との交流 40年とコロナ禍の交流に思う

川場村副村長 宮内実氏

パネルディスカッション ニューノーマル時代における農山村の地域デザイン

コーディネーター：入江彰昭

パネリスト：宮林茂幸、田中伸彦、浅野裕治、大久保研治、宮内実氏

コメント

東京農業大学 町田怜子, 農研機構 唐崎卓也

閉会の挨拶

地域再生研究部会長 宮林茂幸

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インターネット調査(マクロミル社)による馬肉消費に関する調査の実施。

②会津坂下町の町民を対象にした

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。

・緑茶パウダーと一緒に炊く“Come1”を開発した。

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。

・株式会社日揮から協力を得て、食味調査等を実施した。

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」のトマト味を開発した。

3) 商品化・販売

・ブレンド米“Come1”と“スノードロップとまととまと”は年度内に商品化した。

◆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2(2020)年度 活動報告

【幹事会】

2020年10月9日、2021年2月16日に開催した。

【ウェビナーシステムの構築】

グローバル情報研究部会 HP に Webinar システムの機能を実装した。

(<http://gia-nodai.com/>)

【共同事業】

グローバル情報研究部会との共同開催

第4回 GIA コラボ Global Action for SDGs with Bio Technologies Webinar

2021年3月24日(水)10:00~12:30

テーマ：「after Covid-19 微生物と人間社会の関係性」

連携のねらい：Webinar システムの機能を GIA 研究部会 HP に実装させるため

役割分担：ウェビナーシステムの構築、講師の依頼および講演を担当した

参加者：45名

◆プログラム

- 10：00～10：10 コラボウェビナー概要について
武原（グローバル情報研究部会 連絡幹事）
- 10：10～11：00 発展途上国における下水処理・エネルギーの問題解決が期待される微生物燃料電池技術
TOUCH Narong（生産環境工学科）
- 11：00～11：50 海洋におけるプラスチック生分解特性解明への挑戦
西野 康人（海洋水産学科）
- 11：50～12：20 ワイン醸造・バクテリオファージセラピー・水素エネルギーに関する共同研究について
大西 章博（醸造科学科）
- 12：20～12：30 総括
大西（バイオマス・資源・エネルギー研究部会 部会長）

◆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2（2020）年度 活動報告
- 会員勧誘：令和2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3月、部会活動について（メール）
- 打合せ：令和2年10月、多摩森林科学園サクラ見本園観察現地打合せ
令和3年1月、明治神宮社叢観察現地打合せ
- 観察会：令和2年4月18日（土）に予定した森林科学園サクラ見本園の観察会は中止した。
令和2年度予定していた他の観察会2回も、コロナ禍の影響で中止した。

◆部会名：みどりの環境創造研究部会

- ◇部会長：中村 幸人 連絡幹事：鈴木 伸一
- ◇令和2（2020）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。本年度も例年に基づいて、以下の行事計画を立案し実施する予定であったが、折しも新型コロナウイルス COVID-19 によるパンデミックとなり、その感染防止のため計画の実施が困難となった。本部会のセミナーや認定講座は、インターネットによる Zoom 等の遠隔対応では実施が難しく、極めて残念ではあったがすべて中止とする決定をとった。

したがって、今年度活動計画に沿った具体的な活動は行っていない。しかしながら、活動休止状態の中でやっておくべきこととして考えられたのが、これまでの総括と研修資料の整理をしておき、コロナ禍が収束した段階からすぐに活動を開始するための準備をしておくことであった。その結果、これまでのセミナー活動の振り返りとして研修内容をA、B、Cのコースごとの資料集として『植生アドバイザー養成のための副読本』として冊子に発行した。

2020年度の主な活動計画

【セミナー】

- 開催日：令和2年6月27日～6月28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】

- 開催日：令和2年8月28日～8月31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

【認定試験】

開催日：令和2年10月18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】

開催日：令和2年11月15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

◆部会名：労災対策研究部会

◇部長：北田 紀久雄 連絡幹事：半杭 真一

◇令和2（2020）年度 活動報告

1. シンポジウムの開催

日本農業労災学会、労災対策研究部会、就農者推進教育研究部会、農業協同組合研究部会の共催で以下のシンポジウムを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：農業者・農協等関係団体の連携強化による農業労働安全・労災補償対策の実践－GAPを中心に－

日 時：2020年10月23日（金） 13：00～17：10

会 場：オンライン開催（Zoom利用による）

座長解題：緒方 大造（日本農業新聞 論説委員）

平野 繁（東京農業大学 准教授）

基調報告：

第1報告「農業分野における農業者・関係者参加型の労働災害防止の方法－GAPを中心に－」
門間 敏幸（東京農業大学名誉教授、前学会長）

第2報告「グローバルGAPの団体認証取得によるブロックリーのブランド化と労働安全対策について」
菅野 史拓（岩手県宮古農業改良普及センター）

第3報告「女性農業者との農業機械開発と安全対策」
野口 貴弘（井関農機株式会社 販売企画推進部）

第4報告「JA たじま GLOBAL G. A. P. 認証取得－労働安全管理面の取り組みについて－」
谷垣 康（兵庫県 JA たじま 但東営農生活センター センター長）

第5報告「農業労働安全拡充・労災補償対策のための社労士による参加型取り組み」
中村 雅和（いのしし社会保険労務士事務所 所長）

コメント：

安江 紘幸（農研機構 東北農業研究センター 主任研究員）、武田 敏幸（JA 全農 耕種総合対策部 GAP 推進課 課長）、木山 恭子（社会保険労務士法人たんぼぼ会 所長）、宮永 均（JA はだの 専務理事）

全体討論

座長総括

2. JA 奨励研究（特別研究課題）の研究成果の発行

2018年度に研究助成を受けたJA奨励研究（研究代表者：北田紀久雄）の研究成果が下記の通り発行された。

研究テーマ：JAグループにおけるGAP推進による農業者所得拡大と労働安全確保に関するビジネスモデルとその戦略的実践システムの開発－農業者の所得拡大・地域活性化と安全を目指して－

著 者：北田紀久雄、門間敏幸、半杭真一、他2名

著書名：『協同組合奨励研究報告第四十六輯』（家の光出版総合サービス、2020年9月1日発行）9～163 ページに掲載

東京農業大学農生命科学研究so紀要 第32号

令和3年11月26日 印刷

令和3年12月1日 発行

発行人 上原 万里子

発行所 東京農業大学農生命科学研究so
〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1