

---

# 目 次

---

## <2022年度 総合研究所学内研究プロジェクト研究成果報告>

### ●大学院先導的実学研究プロジェクト

1. 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…………… 1  
研究代表者 和田 健太
2. 血中抗ミューラー管ホルモンを利用した黒毛和種供卵牛および繁殖雌牛選抜技術の開発…… 7  
研究代表者 平山 博樹

### ●総合研究所プロジェクト

1. miRNA に着目した高機能性トマトの開発…………… 10  
研究代表者 四井 いずみ
2. 農大和牛の作成と肥育を介した新しい農大ブランドの作成…………… 16  
研究代表者 山本 祐司
3. アグロバクテリウムを介した食用ラン藻スピルリナにおける  
形質転換系の確立と有用物質生産…………… 19  
研究代表者 谷岡 由梨
4. 大麦の生産安定化にむけた根のストレス応答の解明…………… 25  
研究代表者 伊藤 博武
5. パン用小麦新品種の高品質・多収栽培技術の早期確立に向けた窒素施肥技術の開発…………… 31  
研究代表者 笠島 真也
6. 香り豊かな高品質ソバ創出に向けた重要香気成分の解析…………… 35  
研究代表者 妙田 貴生
7. ゲノム改変による環境適応能力を高めた作物育種への挑戦…………… 42  
研究代表者 篠澤 章久

### ●大学戦略研究プロジェクト

1. 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…………… 44  
研究代表者 小松 憲治
2. 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…………… 49  
研究代表者 今井 伸夫
3. 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…………… 57  
研究代表者 鈴木 伸治

4. 新たな肉用牛「無角黒毛」の創出—生産性とアニマルウェルフェアの向上を目指して—	73
研究代表者 庫本 高志	
5. 玄米摂取が非アルコール性脂肪肝に及ぼす影響の分子機序の解析	77
研究代表者 山本 祐司	
6. 動物個体生産向上を目指した胚の着床能獲得を支持する子宮液内因子の解明	81
研究代表者 小川 英彦	
7. With/After COVID-19の持続可能なFood Supply Chainに向けたシナリオ分析	85
研究代表者 佐藤 みずほ	
8. アフリカ実用作物を対象としたストライガ防除機構の解明と分子育種	93
研究代表者 伊藤 晋作	
9. 植物生育促進・窒素固定細菌の作物生産への利用技術の開発	98
研究代表者 志和地 弘信	
10. 未利用資源の付加価値向上を目指した機能性食品成分の探索 および農大発・未利用資源ライブラリーの構築	105
研究代表者 鈴木 司	
11. 新規抽出技術を用いた微細藻類の代替タンパク質資源としての利用	110
研究代表者 相根 義昌	
<b>●海外協定校との共同研究プロジェクト</b>	
1. アジア・モンスーン地域におけるグリーンインフラの実態と枠組みに関する研究	113
研究代表者 鈴木 貢次郎	
2. ネパール・ヒマラヤにおける気候変動及び生活様式の変化による 災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価	121
研究代表者 下嶋 聖	
3. 熱帯地域への生物的土壌物理性改良システムの普及に向けた下層土の団粒化機構の解明	162
研究代表者 中塚 博子	
<b>●博士支援テーマ重点化プロジェクト</b>	
1. 排卵後の卵管内 miRNA はウシ初期胚の発生に重要な変化を支持する	170
研究代表者 岩田 尚孝	
2. <i>Streptomyces</i> 属における新規シグナル伝達を基盤とした形態分化制御機構の解析	173
研究代表者 佐々木 康幸	
3. UAV 空撮画像に基づいた作物高・植被率・植生指数による作物生育の総合評価手法の開発	176
研究代表者 岡澤 宏	

## ●持続可能な農業研究プロジェクト

1. 有機栽培における微生物燃料電池技術効果の検証…………… 184  
研究代表者 トウ ナロン
2. 機能性付与アメリカザリガニの代替タンパク質創出…………… 191  
研究代表者 武田 晃治

## ●東京農業大学と東京情報大学との共同研究プロジェクト

1. Society5.0 社会におけるレジリエンス農業の確立に向けた  
多様な人々の能力を発揮するロボティック・プロセス・  
オートメーション (RPA) 実装の加速化 …………… 200  
研究代表者 町田 怜子

## ●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. 耐塩性を向上させる *SALT* 遺伝子欠損を利用したゲノム編集作物育種への展開 …………… 217  
研究代表者 太治 輝昭
2. 農研機構開発の準同質遺伝子系統を利用した対象遺伝子の酒米利用のポテンシャル評価…………… 222  
研究代表者 数岡 孝幸
3. ゲノム編集技術および海外遺伝資源や突然変異系統選抜による巨大胚コムギの作出…………… 225  
研究代表者 西尾 善太

## ●企業とのマッチングファンド型共同研究プロジェクト

1. 街区スケールにおける雨水流出抑制効果を中心にした  
グリーンインフラ評価手法に関する研究…………… 240  
研究代表者 福岡 孝則
2. 車載写真レーザ測量システムを用いた街路樹に対する維持管理手法の構築…………… 252  
研究代表者 國井 洋一

## ●若手・女性研究者支援プロジェクト

1. 植物の基礎的抵抗性における細胞死抑制機構の解析…………… 258  
研究代表者 四井 いずみ
2. 黒麹菌由来フェノール酸脱炭酸酵素の誘導・発現メカニズムの解明…………… 262  
研究代表者 眞榮田 麻友美

## <研究所記事>

- 東京農業大学総合研究所研究会 令和4年度事業報告 …………… 267



# 2022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

北方圏農学専攻

研究代表者 和田 健太

## 1. 研究課題名および予算額

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

## 2. 研究組織

	氏名	所属（専攻）・職名	研究の役割
研究代表者	和田 健太	生物産業学研究科 北方圏 農学専攻・教授	研究総括・遺伝学：エミューの新規遺伝マーカーの開発と、生産形質に関連する遺伝子多型の探索
研究分担者	平山 博樹	生物産業学研究科 北方圏 農学専攻・教授	繁殖学：精管由来精子の凍結保存と、人工授精法の確立
	相馬 幸作	生物産業学研究科 北方圏 農学専攻・教授	栄養学：機能性自給飼料の作製と栄養学的評価
	大久保倫子	生物産業学研究科 北方圏 農学専攻・助教	栄養学・動物管理：機能性飼料の屠畜形質への効果・エミューの不動化に適する麻酔法の開発
	高橋 諒	生物産業学研究科 生物産業学専攻・博士後期課程1年	エミューの脂肪組織における新規転写産物、NELTsの機能解析
	草野 奈央	生物産業学研究科 生物生産学専攻・博士前期課程2年	新規 SNP マーカーの開発と、日本飼育集団における多型性の評価
	目黒 国光	生物産業学研究科 生物生産学専攻・博士前期課程2年	エミュー精子の凍結保護剤および酸化剤の探索と評価
	鈴木 美玲	生物産業学研究科 北方圏 農学専攻・博士前期課程1年	凍結融解精子の生存性・運動性および受精能の評価

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の3年目）

## 4. 研究の背景（当初）

エミューは食肉、卵およびオイルを生産する新規有用動物資源として注目されている。このため、我

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

## 5. 研究目的

エミューは新規有用動物資源として注目されているものの、エミューの生産物を効率的に供給できるシステムは構築されていない。本研究の目的は、①エミューの遺伝子多型情報の応用と、②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③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。

我々は昨年度までに、①300 個体を超えるエミューの屠体形質を評価し、その特性を明らかにした (Koshiishi et al. 2022. *Poult Sci*)。RAD-seq によりエミューにおける多数の SNPs 情報を取得した。また、マイクロサテライト DNA (STR) およびミトコンドリア DNA (mtDNA) 多型に基づく分析は、日本のエミューが少なくとも遺伝的に分化した 4 つのグループに分かれることを明らかにした (Koshiishi et al. 2022. *Anim Sci J*)。さらに、脂肪組織に高発現する *PLINI* 遺伝子の多型はエミューの産脂肪および産肉形質に有意な関連性を示すことを報告した (Koshiishi et al. 投稿準備中)。加えて我々は、エミュー脂肪組織に高発現する機能不明な転写産物 (Non-annotated Emu Lipid's Transcript-1; NELTI) の完全長 cDNA 配列を決定し、その翻訳産物は細胞質に局在することを報告した。②本研究は、エミュー精子運動性を評価する独自の手法を開発した。また、我々は凍結融解後の精子生存率および先体膜正常率が、新鮮精子と比べて有意に低下するが、それらは耐凍剤 (MA) の濃度が 7.5% よりも 18% において改善する傾向があることを示してきた。一方、2020 年度に比べて 2021 年度に採精した精子の運動性は有意に高かった。③我々は、独自に開発した自給飼料であるニンジン・ポテトプロテインサイレージの給餌が、エミューの脂肪の脂肪酸組成に影響し、 $\alpha$ -リノレン酸の含有率を増加させることを報告してきた。

これら前年度までの研究結果をふまえ、本年度は、①RAD-seq により検出された SNP に基づくゲノムワイド関連解析と多型部位の検証、ならびに多検体における *PLINI* 遺伝子多型の屠体形質への効果の検証を行った。②では、高い運動性がみられた 2021 年度の射出精液における凍結融解後の運動性と、MA に加えてグリセリンの耐凍性について評価した。また、エミューの人工授精において必要となる不動化に有効な麻醉法を検討した。③では、ニンジン・ポテトプロテインサイレージの給餌がエミュー脂肪組織へのビタミン A 誘導体の含有量を調査した。

## 6. 研究 (実験) 方法

### ①エミューの遺伝子多型情報の応用

- 1) 以前に実施した 102 個体のエミューにおける RAD-seq 解析データは、CLC genomics によって分析した。SNPs に基づく集団内のクラスター解析は、STRUCTURE ver.2.3.4 ソフトウェアによって行った。また、最適なクラスターの数は Structure Harvester ver.0.6.94 ソフトウェアによって推定した。SNPs と屠畜形質との相関 (Genome-wide association study: GWAS) は PLINK ver.1.90 ソフトウェアによって調査した。SNPs の検証は、RAD-seq 解析により得られた SNP 周辺の塩基配列から PCR プライマーを設計し、サンガーシーケンス法によって行った。
- 2) 我々は、エミューの *PLINI* に 7 箇所の SNPs (うち 2 箇所は非同義置換) を同定している。*PLINI*

の多型はサンガーシーケンス法によりジェノタイピングし、関連解析は exon3 において 336 個体、および exon5 においては 144 個体の屠体形質との間で実施した。

## ②人工授精の開発

凍結精液作製方法の検討を目的に、射出精液性状の年度間比較を行った。採取した精液は、7.5%メチルアセトアミド (MA) およびグリセリンを耐凍剤とした急速ストロー法によって凍結保存した。新鮮精液および凍結融解精液の生存精子率および先体膜正常率は PI/PNA 染色法を用いて評価した。凍結融解前後の精子運動性は、コンピューター精子運動性解析 (CASA) システムを用いて評価した。また、人工授精様式の確立を目的に、鎮静剤と麻酔薬を用いたエミュアの不動化効果を検討した。

## ③未利用資源を活用したエミュアの機能性生産物の開発

ニンジン・ポテトプロテインサイレージをおよそ2ヵ月間給与したエミュア4個体を屠畜し、その脂肪中のビタミンA含量を測定し、エミュア牧場で配合飼料を給与され屠畜された個体と比較した。ビタミンAの測定は(一財)日本食品分析センターに依頼し、レチノール活性当量として高速液体クロマトグラフィーで測定した。

## 7. 研究成果

### ①エミュアの遺伝子多型情報の応用

- 1) NextSeq500 を用いて 102 個体のエミュアから合計で 566,940,804 のペアエンドリードを得た。そのうち、99.38%はエミュアの不完全なゲノム (GenBank GCA\_016128335.1) にマップされた。102 個体のエミュアにおいて、473,966 箇所の SNPs が検出され、ここからマイナーアレル (Minor Allele Frequency<0.04) を除くと 741 箇所の SNPs が抽出された。また、741 箇所の SNPs を含むリードのうち、289 箇所はエミュアの染色体(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 26, 27, 28, 33, 40, W, および Z 染色体) にマップされた。741 箇所の SNPs 情報に基づいた STRUCTURE 解析は、102 個体のエミュアが大きく 2 つのクラスターに分かれることを示した。次に、エミュアの染色体上の位置を特定できた 289SNPs に基づく GWAS を行った。その結果、本研究はエミュアの第 6 番染色体に屠畜時体重、体重 1 kg あたりの産肉量および脂肪重量と有意に関連する 1 箇所の SNP (SNP#148) を検出した ( $P<0.000005$ )。加えて、この SNP ジェノタイプ (CC or AA) と屠畜形質との関連解析を行った結果、屠畜時体重、脂肪重量、産肉量、および体重 1 kg 当たりの脂肪重量は、AA および CC が有意に高い値を示した ( $P<0.00001$ )。これらの結果は、SNP#148 がエミュアの生産形質に関連する有用な DNA マーカーとなることを示唆した。次に、これら SNPs の存在を検証するために、SNP#148 を含む 6 箇所のサンガーシーケンスを行った。その結果、RAD-seq によりコールされた SNPs はみつからなかったが、3 種類において RAD-seq とは異なる SNP の存在が示唆された。
- 2) 我々は、RNA-seq により cDNA 情報を取得し、その後のサンガーシーケンスによって、エミュア *PLINI* 遺伝子に 7 箇所 (c.260A>G, c.270T>C, c.321C>T, c.342C>G, c.587A>T, c.639T>C, および c.830T>C) を同定している。そのうち、非同義置換であるエキソン 3 の c.260A>G (p.Asn87Ser) およびエキソン 5 の c.587A>T (p.Lys196Met) は集団内の遺伝子頻度に極端な偏りが認められた。そのため、本研究はそれぞれの近傍にある同義置換、c.270T>C および c.639T>C の SNPs と屠畜形質との関連解析を行った。その結果、336 個体の c.270T>C の遺伝子型頻度は CC、TC、および TT に

において、それぞれ 0.14、0.44、および 0.42 であった。この SNP において、屠畜形質との関連解析を行った結果、体重 1 kg あたりの脂肪重量は TT 型に比べて CC 型が有意に高く ( $P<0.01$ )、それとは逆に体重 1 kg 当たりの産肉量は、CC 型に比べて TT 型が有意に高かった ( $P<0.01$ )。これらの結果は、エミューにおける *PLINI* 多型が産脂肪および産肉形質と関連し、脂肪と産肉量はトレードオフの関係にあることを示唆した。144 個体のエミューにおける *c.639T>C* の遺伝子型頻度は、CC、TC、および TT において、それぞれ 0.46、0.47、および 0.08 であった。これら遺伝子型と屠体形質との間には有意な関連が認められなかった。今後は、解析個体を増やし、検証を進める予定である。

## ②人工授精の開発

2020 および 2021 年度の繁殖期を通して、学内飼育個体 1 羽から射出精液を採取した。精液量、精液濃度および精子数は採取日毎に変動したが、年度間の差は認められなかった。2022 年度は、これまで実績のなかった 11 月初旬からの採精に成功し、繁殖期の終了する 4 月上旬まで調査を継続してさらに精液性状データを蓄積する。これまでに得られた射出精液性状は、平均射出液量が  $0.68\pm 0.31\text{ml}$ 、平均精子濃度が  $26.8\pm 15.6$  億/ml、平均精子数が  $15.9\pm 6.8$  億であり、オーストラリアで飼育されるエミューと同程度の成績であった。

射出精子の運動性を示す運動精子率および前進運動精子率は、いずれも 2020 年度に比較して 2021 および 2022 年度に有意に上昇し、精子の品質向上が示唆された。7.5%MA を耐凍剤として凍結保存した精液の融解後運動性は、2020 年度に比較して 2021 年度の前進運動精子率が有意に高く、新鮮精子の品質向上によって凍結融解後の精子の品質も向上したものと考えられた。グリセリンを耐凍剤として凍結した精液も運動性が向上する傾向が見られたため、今後も解析を重ねて検証する。

麻酔薬であるケタミンの単独投与では十分な不動化効果が得られなかった。そこで、鎮静剤（キシラジン）とケタミンの複合投与を試みたところ、30 分間程度の鎮静化が可能であり、人工授精のために短時間エミューを保定するために活用できると考えられた。

## ③未利用資源を活用したエミューの機能性生産物の開発

ニンジン・ポテトプロテインサイレージを給与された個体のビタミン A 含量は  $93\sim 254\mu\text{g}/100\text{g}$  であった。エミュー牧場で飼育された個体の脂肪中のビタミン A 含量は  $168\sim 369\mu\text{g}/100\text{g}$  であったことから、ニンジンを摂取することによって脂肪中のビタミン A 含量が高くなるとはいえない結果であった。しかし、調製したニンジン・ポテトプロテインサイレージの量が足りず、屠畜直前までニンジン・ポテトプロテインサイレージを給与することができなかったことや、ポテトプロテインの含有率を原物あたり 10% で設計したことにより、ニンジン・ポテトプロテインサイレージの嗜好性が低下してしまったことが影響した可能性が考えられた。これまでの研究結果から、ポテトプロテインの含有率は 5% 程度に抑えることで嗜好性を低下させないことが明らかになっているため、今後はポテトプロテインの含有割合ならびに屠畜までの飼料スケジュールを考慮し、ニンジン・ポテトプロテインサイレージを設計・調製する必要がある。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現段階ではないが、SNP#148 が検出されたリードには他の塩基置換も認められたこと、さらに *PLINI* に検出された 1 箇所の SNP は、産脂肪形質と産肉形質に関連する多型であったことから、これらはエミューの効率的な遺伝的改良を可能にする有用な DNA マーカーとなることが期待された。



エミューの不動化は通常の麻酔薬では困難であった。本研究はキシラジンとケタミンの混合麻酔がエミューに不動化に有効であることを確認し、これは人工授精に限定されない様々な局面において、実用化できると期待された。加えて、良質な射出精液の回収方法を確立し、その性状から人工授精に用いることのできるレベルであることが期待された。

規格外野菜と副産物に由来する安価な自給飼料の開発に成功し、それはエミューが嗜好することも確認できた。飼料高騰の苦難にある我が国において本飼料は、エミュー産業だけでなく、地方の畜産業における通年給餌が可能な新たな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

RAD-seqにより検出された SNPs の再現性は低かった。その一方で、サンガーシーケンスによる検証は、それらのリードに新たな SNPs が存在することを示唆した。そのため、本研究は、さらなるサンガーシーケンスによる検証を進め、エミューにおける SNP マーカーを充実させる。*PLINI* 遺伝子多型の屠体形質との関連は、他の体規模な集団（佐賀県など）においても検証する必要がある。一方、屠体形質と関連した *PLINI* の SNP は同義置換であった。このため、本 SNP が屠体形質に関与する証拠を得るため、*PLINI* のプロモーター配列を含むゲノム領域のシーケンスを解読し、さらに脂肪組織における遺伝子/タンパク質発現解析を行いたい。加えて、網走市におけるエミュー集団の喪失は、*NELTs* の機能解析において大きな障害となった。今後は、佐賀県の集団、あるいは網走の復旧する予定の集団を対象として脂肪組織における未知の転写産物である *NELTs* の機能を明らかにしたい。

本研究は、良好な運動性を保持した射出精液の回収に成功し、さらに人工授精時に使用する麻酔条件を確立できた。このことから、射出精液を用いた人工授精の実施は可能な段階に入った。しかし、凍結融解後精液の運動性はまだ低水準であることから、抗酸化剤などを用いた凍結保護材の開発が今後の課題である。さらに、採精できる個体が限られており、今後は採精のためのエミューの調教が必要と考え、既にそれに着手している。

本研究は、エミューの嗜好性が高いニンジン・ポテトプロテイン混合サイレージの開発に成功したものの、予測されたビタミン A の脂肪組織への移行は認められなかった。これは検討段階の飼料を給餌したことや、給餌スケジュールや給餌量の不備に起因する可能性があるため、これを踏まえて次年度に給餌実験を行いたい。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Koshiishi Y, Okubo MM, Kameyama Y, Souma K, Hirayama H, Wada K. 2022. Genetic relationships among emu populations in Japanese farms based on mitochondrial and microsatellite DNA polymorphisms. *Anim Sci J*. 93: e13786. doi: 10.1111/asj.13786.
- 2) Koshiishi Y, Okubo MM, Nakajyo H, Machida R, Yamamoto T, Myoda T, Kameyama Y, Hirayama H, Souma K, Yokohama M, Wada K. 2022. Carcass traits and fat quality of breeding emu (*Dromaius novaehollandiae*) in Northern Japan. *Poult Sci*. 101: 102050. doi: 10.1016/j.psj.2022.102050.

### 学会発表

- 1) 興石雄一・大久保 倫子・亀山祐一・相馬幸作・平山博樹・和田健太. ミトコンドリア DNA および

マイクロサテライトマーカーに基づく国内エミュー (*Dromaius novaehollandiae*) 飼育集団の遺伝的関係. 日本畜産学会第 130 回大会. 2022 年 9 月 14 日-9 月 17 日. 厚木市 (オンライン開催).

- 2) 目黒国光・鈴木美鈴・川畑諒・木村元紀・輿石雄一・和田健太・大久保倫子・相馬幸作・平山博樹.  
エミュー (*Dromaius novaehollandiae*) の射出精液を用いた凍結精液作製の試み. 第 115 回日本繁殖生物学会. 2022 年 9 月 11 日-9 月 14 日. 東京都.

# 2022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

北方圏農学専攻

研究代表者 平山 博樹

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
血中抗ミューラー管ホルモンを利用した黒毛和種供卵牛および繁殖雌牛選抜技術の開発	3,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属（専攻）・職名	研究の役割
研究代表者	平山 博樹	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・教授	研究統括・材料採取
研究分担者	大久保倫子	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・助教	材料採取・イムノブロット
	目黒 国光	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・博士前期課程2年	育成牛の血中 AMH 濃度解析
	鈴木 美玲	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・博士前期課程1年	成牛の血中 AMH 濃度解析
	小山 毅	北海道立総合研究機構 畜産試験場・主査	材料採取・統計解析
	鈴木 洋美	北海道立総合研究機構 畜産試験場・研究職員	材料採取・早期選抜法開発

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日（3年計画の1年目）

## 4. 研究の背景（当初）

黒毛和種牛は我が国固有の貴重な遺伝資源であるが、飼養戸数や飼養従事者の減少が進み、生産基盤強化が課題となっている。また、畜産輸出額の60%以上を占める和牛肉は、国内消費だけでなく輸出品目としても増産が求められている。黒毛和種牛増頭の要となる繁殖雌牛頭数は減少を続けてきたが、農場の大規模化が進み繁殖用に仕向けられる育成牛が増加しつつある。その一方で、生産現場では雌牛の繁殖能力低下が問題となっており、人工授精受胎率は10年間で15%程度も低下している。このため、従来から重要視されている産肉能力に加えて、性成熟後の妊娠確率の高い育成牛を繁殖雌牛として選畜できれば、効率的な黒毛和種牛の増頭が可能となる。また、受精卵移植技術は、乳用種を借り腹牛とし

て良質な和牛肉を生産する方法などとして急速に利用が拡大している。しかし、移植用の受精卵を生産する能力は供卵牛毎に大きく異なり、効率的な受精卵生産技術の開発が課題となっている。

## 5. 研究目的

本研究ではこれらの課題を解決するために、抗ミューラー管ホルモン（AMH）を指標とした黒毛和種繁殖雌牛の選抜技術を確立する。我々は、血中 AMH 濃度を測定することで、過剰排卵処理によって一頭の供卵牛から生産される受精卵の数を推定できることを実証した（Hirayama et al., 2012, 2017, 2019）。2849h これを受けて、生産現場では血中 AMH 濃度の測定希望が急増しているが、測定依頼先および簡明な選抜基準が整備されていないことが問題となっている。そこで、本研究では黒毛和種供卵牛および繁殖雌牛を選抜するための血中 AMH 濃度基準値を作成する。さらに、繁殖用と肥育用の選畜を子牛の段階で実施する繁殖雌牛早期選抜方法、すべての農場で利用可能な血中 AMH 濃度レベル簡易判定技術のふたつを開発し、生産現場における技術普及と繁殖能力向上を通して黒毛和種牛の増頭に貢献する。

## 6. 研究（実験）方法

### 1) 繁殖能力推定基準値の作成

初年度は、約 800 頭の黒毛和種雌牛から血液を採取した。血中 AMH 濃度は現在までに 400 頭分を測定済みであり、これまでに蓄積した測定データと合わせて 2,228 頭分の濃度分布を分析した。このうち 294 頭（15 牛群）について、血中 AMH 濃度と過剰排卵処理による採卵成績の関係を一般化線形混合モデルにより解析した。

### 2) 繁殖雌牛早期選抜法の開発

初年度は、黒毛和種育成牛 7 頭について、発育にともなう血中 AMH 濃度の変化を調査した。採血は、出生後 1 週目から 4 週間毎とし、14 ヶ月齢まで実施した。3-5 ヶ月齢の間は、毎週採血を実施した。

### 3) 血中 AMH レベル簡易判定法の開発

初年度は、AMH の C 末端領域を認識するポリクローナル抗体（抗 AMH<sub>c</sub> 抗体）を作製し、ウエスタンブロッティング、免疫組織化学およびドットブロット法によって、抗体と AMH の反応特異性を評価した。

## 7. 研究成果

### 1) 繁殖能力推定基準値の作成

15 ヶ月齢以上の黒毛和種成牛（1,352 頭）における血中 AMH 濃度は、中央値が 779 pg/ml、平均値が 993 pg/ml であった。15 ヶ月齢以下の育成牛（876 頭）における中央値は 489 pg/ml、平均値は 629 pg/ml であり、成牛に比較して血中 AMH 濃度が低い傾向を示した。成牛と育成牛における血中 AMH 濃度分布の差は、成牛に過去の繁殖成績に基づいて選抜された個体が含まれることが要因のひとつとして考えられ、今後検証していく。血中 AMH 濃度分布は月齢にかかわらず広く（0-13,166 pg/ml）、血中 AMH 濃度は個体差が大きかった。

過剰排卵処理による受精卵の総回収数および凍結可能胚数は、いずれも血中 AMH 濃度の増加に伴って増加した。しかし、高濃度の血中 AMH 濃度では 95%信頼区間の範囲が広く、今後も調査頭数を増やして検証を進める。

以上の結果より、血中 AMH 濃度は個体差が大きく、今後の解析によって採卵成績や人工授精成績との関係が明らかになれば、繁殖用雌牛の有用な選抜基準となることが示唆された。

## 2) 繁殖雌牛早期選抜法の開発

育成牛の血中 AMH 濃度は、発育にともない一過性に上昇する傾向を示した。血中 AMH 濃度のレベルは個体差が大きいことから、今後は調査頭数を増やして発育にともなう血中 AMH 濃度の変化を明確にする。

## 3) 血中 AMH レベル簡易判定法の開発

作製した抗 AMH<sub>c</sub> 抗体は、AMH の前駆体が蛋白分解酵素で切断されて生じる AMH<sub>c</sub> に一致する約 13kDa のペプチドを認識した。また、この抗体を用いた免疫組織化学では、AMH を特異的に生産する卵胞の顆粒層細胞にシグナルが検出された。抗 AMH<sub>c</sub> 抗体が AMH<sub>c</sub> ペプチドを認識することが確認されたことから、ドットプロット法によって血漿中の AMH の検出を試みたところ、AMH 濃度 490 および 635 pg/ml の血漿から用量依存的に AMH が検出された。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

研究初年度であり、実用化された成果はない。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

雌牛の血液採取は計画通りに進行しており、次年度も 700 頭程度の採血および AMH 濃度の測定を進める。また、採卵成績および人工授精による繁殖成績を収集し、血中 AMH 濃度との関係を統計学的に解析し、繁殖能力の高い雌牛を選抜するための血中 AMH 濃度の基準値を作成する。

次年度は、10 頭程度の育成牛について性成熟まで血中 AMH 濃度の測定を行う。一般の生産農場では、肉用として育成牛が売り払われることも多く、性成熟まで継続して血液を採取することは難しい。本研究では、道総研畜産試験場と連携し、最大で 14 ヶ月齢までの血中 AMH 濃度の推移を明らかにする。これによって、繁殖供用開始前の育成段階で血中 AMH 濃度による雌牛の選抜を可能にする。

次年度は、新たに AMH の N 末端を認識する抗体を作製し、サンドイッチ法による AMH 検出法を確立する。それらの方法を基盤として検出条件を検討し、特異性および検出感度を評価するとともにその向上に取り組む。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 鈴木美玲, 神崎野道, 小野楓美花, 山口凜, 澤井健, 大久保倫子, 相馬幸作, 平山博樹. ウシ子宮内膜に存在する抗ミューラー管ホルモンおよびその受容体の量的特徴. 第 115 回日本繁殖生物学大会. 2022 年 9 月. 東京大学.
- 2) 小山毅, 藤井貴志, 中津祥也, 内藤学, 平山博樹. 黒毛和牛における黄体検査時の卵巣予備能と受精卵移植成績の関係. 第 6 回日本胚移植技術研究大会・第 39 回北海道牛受精卵移植研究会合同発表北海道大会. 2022 年 11 月. 酪農学園大学.
- 3) 鈴木洋美, 小山毅, 上館伸幸, 平山博樹, 鹿島聖志, 國重享子, 藤川朗. 黒毛和種における血中抗ミューラー管ホルモン (AMH) の遺伝的パラメータの推定. 第 23 回日本動物遺伝育種学会大会. 2022 年 11 月. 鹿児島大学.

# 2022年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 四井 いずみ

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
miRNA に着目した高機能性トマトの開発	920,000

## 2. 研究組織

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

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

植物由来の miRNA が食品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ている。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が示されている。しかし、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るのか、またその場合どのような効果が現れるのかなどの、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

本研究では、ヒトへの機能性（正負を含む）に関わるトマト miRNA を同定することを目指して、トマトのモデルである矮性品種 Micro-Tom を用いて以下の研究方法にある項目を実施する。

## 6. 研究（実験）方法

<トマト果実における miRNA の機能性評価>

1. 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報告されている（Zhang et al., *Cell Research* 2012）。果実で高蓄積している miRNA を探索するために、small RNA-seq 解析を実施する。
2. 果実での高蓄積 miRNA を見出した後は、人工合成した single-strand RNA（ssRNA）を動物細胞へ取り込ませ機能性を検証する。農芸化学科の山本祐司教授の協力のもと、培養細胞を用いて取り込み実験を行なう。
3. 高蓄積 miRNA の中からヒトにおける標的遺伝子を絞り込むために、psRNATarget: A Plant Small RNA Target Analysis Server (<https://www.zhaolab.org/psRNATarget/>) を用いて標的となり得るヒト遺伝子の検索を行う。

<Micro-Tom 形質転換系の確立>

4. これまで、Micro-Tom 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、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の形質転換系を確立する。バイオサイエンス学科の伊澤かんな准教授の協力のもと、Micro-Tom の形質転換技術の確立に注力する。

## 7. 研究成果

<トマト果実における miRNA の機能性評価>

### 1. Micro-Tom 果実を用いた small RNA-seq 解析

Micro-Tom 果実で高蓄積している miRNA を網羅的に探索するために small RNA-seq を実施した。Micro-Tom 果実の成熟段階は、Immature Green、Mature Green、Breaker、Turning、Red Ripe、Over Ripe の6段階に分けられる。Mature Green (MG)、Breaker (B) と Turning (T) の混合サンプル、Red Ripe (RR)、葉から n=3 でサンプリングし、total RNA を抽出した。果実からの total RNA を抽出する際には、Fruit-mate™ for RNA Purification（タカラバイオ）を用いて多糖類の除去をしてから RNAiso Plus（タカラバイオ）を用いて total RNA を抽出した。その後、Next Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina (Set 1)（NEB）を用いて cDNA 合成を行い、miRNA に該当する 20 から 22bp 長を分画しシーケンス解析を行った。TOMATO FUNCTIONAL GENOMICS DATABASE (TFGD) に miRNA としてリスト化されている 202 個について ([http://ted.bti.cornell.edu/cgi-bin/TFGD/sRNA/miRNA\\_list.cgi](http://ted.bti.cornell.edu/cgi-bin/TFGD/sRNA/miRNA_list.cgi))、small RNA-seq で得られたリードカウントを Trimmed mean of M values (TMM) により正規化し、果実において高蓄積している miRNA を見出した（表 1）。

### 2. 動物細胞への取り込み実験

Small RNA-seq により果実と葉で高蓄積していた M00033 (sly-miR166b) の ssRNA 及びネガティブコントロールとして逆鎖の ssRNA を人工合成し、動物細胞への取り込み実験に供した。さらに

イネの種子（可食部）で高蓄積し、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報告されている miR168a と相同性が高い sly-miR168a (M00040) も Micro-Tom 果実と葉において高蓄積していた（表 1）。sly-miR166b 同様に sly-miR168a についても ssRNA 及び逆鎖の ssRNA を人工合成し、動物細胞への取り込み実験に供した。

miRNA がヒトの生体機能向上に関与するか明らかにするために脂質代謝および糖代謝を評価指標とし以下 3 つの実験により逆鎖 ssRNA 処理と miRNA 処理との比較を行った。1) 血中から脂質の取り込みに機能する LDL 受容体の蓄積量を定量することにより miRNA の脂質代謝への影響を解析する。2) 肝臓由来のがん細胞である HEPG2 細胞の細胞遊走能を解析することにより miRNA のがん細胞転移への影響を解析する。3) グルコキナーゼの発現量を定量することにより miRNA の糖代謝への影響を解析する。2) および 3) においては sly-miR166b および sly-miR168a とともにネガティブコントロールとの差は観察されなかった。3) においては sly-miR166b 処理はネガティブコントロールと比較して LDL 受容体の蓄積量が ssRNA 濃度依存的に上昇する傾向が観察された。

### 3. ヒトにおける標的遺伝子の絞り込み

果実と葉で高蓄積していた M00019, M00021, M00033, M00040, M00064, M00069, M00074, M00129, M00133, M00164, M00188, M00201（表 1 黄色）、果実で高蓄積していた M00026, M00077, M00085, M00169（表 1 桃色）について、psRNATarget: A Plant Small RNA Target Analysis Server (<https://www.zhaolab.org/psRNATarget/>) を用いて標的となり得るヒト遺伝子の検索を行った。データベース検索より、それぞれの miRNA が 100 遺伝子程度のヒト遺伝子を標的とし得ることが示された。今後、対象とする生命現象に応じて解析する Micro-Tom の miRNA を選び、ssRNA を人工合成し動物細胞への取り込み実験等により機能性について評価していく必要がある。

### <Micro-Tom の形質転換系の確立>

#### 4. Micro-Tom 形質転換の最適条件の検討

これまでに形質転換に最適のアグロバクテリウムの検討を行った。C58C1、GV2260、EHA105、AGL-1 の 4 種類のストレインを用いて過剰発現プロモーターに緑色蛍光タンパク質 (GFP) をコードする遺伝子を融合したコンストラクト (*p35S: GFP*) を形質転換させることで GFP 蛍光を指標に形質転換の有無を確かめたが、感染後の選抜培地上で白色化もしくは褐変し形質転換体の獲得には至らなかった。今年度は、原因究明のため筑波大学の江面研究室を訪問し形質転換講習を受けた。これまでの形質転換との大きな違いはアグロバクテリウム感染の際にメルカプトエタノールを使用した点、感染後の組織培養にアガーとゲランガムの混合培地を使用した点、アグロバクテリウムとの共培養日数を 1 日延長した点である。

メルカプトエタノールは還元剤として使用され褐変を防止する効果があるとされている。感染液にメルカプトエタノールを添加すると褐変する個体が減少した。感染液 50 mL に 40  $\mu$ L もしくは 80  $\mu$ L のメルカプトエタノールを添加した場合、感染させた 56 枚の子葉切片のうち、40  $\mu$ L 添加した場合では 17 個体、80  $\mu$ L 添加した場合は 43 個体の生存個体を得た。しかしながら、シュートの再生個体を得ることは出来なかった。以降の感染は感染液 50 mL に 80  $\mu$ L のメルカプトエタノールを添加し、さらに再生個体獲得のための条件検討を行った。

これまではカルス誘導培地にアガーを使用していたが、ゲランガム、ゲランガムとアガーの混合培地を用いて感染個体をカルス誘導した。その結果、ゲランガムでのシュート再生率は 20%程度、混合培地でのシュート再生率は 50%程度とアガーと比較すると高いシュート再生率であった。アガーは固形状態を長期間安定して維持できるが、ゲランガムは長期培養では液化することが知られて



いる。アガーとゲランガムを混合することでゲランガムの培地液化を抑えることでガラス化個体の発生を抑制して、シュート再生率が向上したことが考えられた。アグロバクテリウムとの共培養日数を1日延長したことにより、感染効率が上昇したことも考えられた。

形質転換効率は高くないものの、形質転換体の作出に成功した。今後は形質転換効率の向上およびヒトの生体機能向上に効果のある miRNA の高発現個体の作出を目指す。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

なし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究により Micro-Tom 果実で高蓄積する miRNA を見出すことが出来た。それらが機能性を有するかを動物の培養細胞への取り込み実験等により調べていく必要がある。また、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るか、人工マイクロソームに封入し消化系から摂取させ、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 が機能性を有するか評価していく必要がある。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

なし

学会発表

1) 木村晋之介、四井いずみ、太治輝昭、坂田洋一

トマトの環境ストレス応答における SAL1-PAP 経路の機能解析

第64回日本植物生理学会年会（仙台）、2023年3月10日～17日

表1 TMM正規化した果実と葉で発現しているmiRNAの発現量データ

miRNA_from_TFGD	MG			B+T			RR			Leaf		
	SmallRNA_01	SmallRNA_02	SmallRNA_03	SmallRNA_04	SmallRNA_05	SmallRNA_06	SmallRNA_07	SmallRNA_08	SmallRNA_09	SmallRNA_10	SmallRNA_11	SmallRNA_12
M00001	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00002	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	160.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	709.9
M00003	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	135.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00004	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00005	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00006	96.0	101.7	85.9	131.7	0.0	482.7	271.2	438.5	0.0	622.9	301.6	1064.8
M00007	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00008	575.8	0.0	171.7	0.0	0.0	0.0	2169.9	1425.3	1660.4	0.0	603.2	0.0
M00009	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00010	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00011	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	678.1	877.1	1162.3	0.0	4524.3	2484.6
M00012	0.0	203.5	257.6	790.3	561.8	643.6	949.3	438.5	1494.4	8409.3	4524.3	0.0
M00013	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	354.9
M00014	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00015	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00016	671.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00017	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00018	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00019	74379.9	92788.6	71437.0	134616.3	108573.0	146746.8	184575.4	184187.1	217511.9	97797.0	96517.3	120681.4
M00020	4030.9	2543.5	3949.6	2239.2	1825.9	1609.1	1491.8	1754.2	2158.5	1868.7	2111.3	4614.3
M00021	17755.2	16380.4	15798.6	20811.5	14186.1	19308.8	42448.3	51638.2	56619.5	28653.9	32574.6	37269.3
M00022	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00023	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00024	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00025	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00026	5854.4	6409.7	3005.2	15937.9	14888.4	18021.5	14239.8	12717.7	16604.0	0.0	0.0	0.0
M00027	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00028	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00029	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00030	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00031	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00032	5086.6	8139.3	6783.1	5663.9	4916.0	7723.5	14239.8	9757.5	13781.3	8097.8	9048.5	9938.5
M00033	78986.6	80681.3	78563.5	66517.9	67700.1	87211.4	52755.2	72140.0	63427.1	117730.2	157745.5	149786.9
M00034	17851.2	11395.1	28592.0	20548.1	14607.5	25906.0	25496.1	24667.9	23411.6	45161.0	5429.1	20941.8
M00035	1535.6	2441.8	858.6	3819.8	2106.8	1448.2	10171.3	7784.1	9464.3	622.9	1206.5	1064.8
M00036	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00037	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	643.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00038	2303.4	2950.5	4121.4	790.3	1264.1	0.0	6645.3	4604.7	5645.3	11835.3	8746.9	9938.5
M00039	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00040	14684.0	16177.0	14768.2	15147.6	14045.7	15447.0	20478.2	17980.2	21917.2	21179.0	22319.6	27330.8
M00041	0.0	0.0	85.9	0.0	0.0	0.0	0.0	219.3	166.0	0.0	0.0	0.0
M00042	0.0	0.0	85.9	0.0	0.0	0.0	135.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00043	96.0	101.7	85.9	263.4	0.0	321.8	135.6	219.3	0.0	0.0	0.0	0.0
M00044	0.0	203.5	85.9	263.4	0.0	0.0	109.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00045	287.9	407.0	0.0	0.0	280.9	160.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00046	191.9	203.5	0.0	0.0	0.0	321.8	135.6	219.3	0.0	0.0	0.0	709.9
M00047	287.9	203.5	85.9	395.2	561.8	321.8	135.6	219.3	0.0	311.5	904.9	0.0
M00048	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00049	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00050	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00051	2015.5	3459.2	2490.0	2370.9	842.7	3057.2	2034.3	2631.2	2822.7	4671.8	6032.3	3194.5
M00052	0.0	0.0	0.0	0.0	140.5	643.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00053	959.7	2543.5	601.0	790.3	0.0	0.0	7594.6	5701.0	7471.8	311.5	0.0	2129.7
M00054	0.0	0.0	85.9	263.4	0.0	482.7	135.6	0.0	166.0	0.0	0.0	0.0
M00055	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00056	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00057	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00058	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00059	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00060	479.9	813.9	686.9	658.6	842.7	160.9	678.1	0.0	0.0	0.0	603.2	0.0
M00061	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00062	4894.7	6816.7	5752.7	3688.1	2668.7	3861.8	949.3	1096.4	1162.3	3114.6	4524.3	3549.5
M00063	6334.3	6918.4	4550.7	5532.2	5196.9	4663.3	1491.8	1863.8	996.2	11212.4	6937.2	2839.6
M00064	61711.3	54024.9	59673.9	58087.9	37923.3	48915.6	18444.0	24119.7	23743.7	52947.4	73594.5	75248.4
M00065	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00066	0.0	0.0	85.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4671.8	3016.2	2129.7
M00067	191.9	508.7	85.9	0.0	0.0	160.9	0.0	0.0	0.0	9655.1	4222.6	9228.6
M00068	96.0	203.5	85.9	0.0	0.0	0.0	271.2	219.3	332.1	0.0	0.0	0.0
M00069	115936.7	112424.7	102690.6	93915.3	102112.0	91394.9	112562.5	85734.7	92650.1	126762.4	123964.5	168953.9
M00070	287.9	508.7	515.2	131.7	140.5	0.0	0.0	0.0	332.1	934.4	1508.1	1419.8
M00071	4510.8	4985.3	2318.3	6059.1	6741.9	8689.0	15189.2	16445.3	14943.6	11523.9	6635.6	7453.9
M00072	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00073	2207.4	2543.5	1459.6	3029.5	1545.0	1287.3	2034.3	1425.3	1328.3	8097.8	5730.7	4259.3
M00074	27448.6	27673.8	23440.3	45311.2	35254.6	32020.4	51127.8	45827.5	46159.0	3426.0	11763.1	13133.0
M00075	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00076	5950.4	4578.4	5838.6	7244.5	5337.4	7240.8	13426.1	8990.1	13781.3	6229.1	6334.0	6389.0
M00077	9309.5	10275.9	8929.6	1317.2	5618.3	4183.6	9764.5	16335.6	10626.5	622.9	904.9	0.0
M00078	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00079	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00080	4798.7	4476.5	3091.0	3424.7	2809.1	2091.8	2848.0	3179.4	4151.0	1557.3	3016.2	3904.4
M00081	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00082	959.7	508.7	686.9	1053.7	280.9	482.7	542.5	657.8	498.1	622.9	301.6	1419.8
M00083	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	219.3	0.0	0.0	0.0	0.0
M00084	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00085	4126.9	3255.7	2919.3	1712.3	1123.7	1126.3	3254.8	2850.5	5479.3	622.9	301.6	0.0
M00086	96.0	508.7	0.0	0.0	421.4	0.0	135.6	0.0	166.0	0.0	0.0	0.0
M00087	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	271.2	0.0	0.0	0.0	301.6	0.0
M00088	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00089	1247.7	1831.4	1030.3	1053.7	702.3	1287.3	2576.7	2083.1	1826.4	25850.8	12667.9	15617.6
M00090	0.0	0.0	0.0	0.0	140.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00091	0.0	0.0	85.9	131.7	280.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00092	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M00093	287.9	101.7	429.3	790.3	421.4	1126.3	0.0	328.9	166.0	622.9	301.6	2484.6
M00094	671.8	305.2	343.4	395.2	280.9	321.8	1356.2	2521.6	1992.5	311.5	904.9	709.9
M00095	96.0	0.0	171.7	395.2	140.5	482.7	0.0	109.6	332.1	311.5	0.0	0.0
M00096	191.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	135.6	0.0	166.0	0.0	301.6	354.9
M00097	383.9	610.5	429.3	0.0	140.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	301.6	

M00101	0,0	305,2	257,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	311,5	0,0	0,0
M00102	0,0	508,7	343,4	395,2	561,8	482,7	813,7	438,5	664,2	311,5	1809,7	1419,8
M00103	0,0	101,7	257,6	0,0	280,9	0,0	0,0	109,6	0,0	0,0	301,6	0,0
M00104	1439,6	1322,6	1202,1	2239,2	1264,1	965,4	1084,9	1096,4	1162,3	1557,3	1809,7	709,9
M00105	3743,0	2136,6	1545,5	3819,8	3511,4	4344,5	3526,1	2631,2	3652,9	4671,8	3016,2	4259,3
M00106	191,9	305,2	0,0	263,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1494,4	0,0	0,0	0,0
M00107	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00108	96,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	135,6	438,5	332,1	311,5	0,0	0,0
M00109	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	354,9
M00110	0,0	0,0	343,4	0,0	0,0	0,0	135,6	0,0	166,0	0,0	0,0	354,9
M00111	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00112	959,7	1220,9	515,2	1053,7	1123,7	1287,3	2848,0	3508,3	2324,6	1557,3	1809,7	2129,7
M00113	4990,7	6206,3	4035,5	6585,9	3792,3	6597,2	8543,9	11950,2	6807,6	5917,7	10255,0	4969,2
M00114	96,0	610,5	429,3	922,0	0,0	321,8	406,9	0,0	498,1	0,0	301,6	0,0
M00115	0,0	0,0	772,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	311,5	3317,8	0,0
M00116	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00117	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00118	4318,8	4578,4	3777,9	4215,0	4213,7	5631,7	4204,1	3837,2	4151,0	4048,9	3317,8	7098,9
M00119	96,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00120	959,7	712,2	0,0	395,2	280,9	321,8	0,0	0,0	0,0	311,5	1809,7	0,0
M00121	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00122	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	219,3	0,0	0,0	0,0	0,0
M00123	959,7	305,2	85,9	1053,7	1264,1	321,8	542,5	219,3	830,2	311,5	1809,7	2484,6
M00124	1439,6	1424,4	429,3	2766,1	4073,2	2091,8	2576,7	3946,9	3320,8	1245,8	301,6	1774,7
M00125	0,0	0,0	429,3	0,0	0,0	160,9	678,1	1096,4	0,0	0,0	904,9	3194,5
M00126	29752,0	34083,5	24642,3	21733,6	28372,2	18343,4	24139,9	17760,9	14611,5	18064,4	5730,7	17037,4
M00127	34166,8	28386,0	31339,5	28187,8	31743,2	36847,6	32683,8	35192,9	43170,3	6540,6	4825,9	2839,6
M00128	0,0	610,5	257,6	131,7	140,5	0,0	135,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00129	68909,4	76713,3	53491,9	130006,2	140878,0	136931,5	19935,8	17212,7	21087,0	171300,5	199067,0	207643,0
M00130	10941,0	11089,9	9874,1	14620,8	21068,5	17056,1	2712,4	3179,4	1826,4	51078,7	46750,6	60695,6
M00131	191,9	407,0	515,2	0,0	280,9	321,8	813,7	219,3	166,0	0,0	0,0	354,9
M00132	863,8	1933,1	858,6	6059,1	4916,0	4988,1	3254,8	2740,9	1494,4	934,4	904,9	4,0
M00133	24473,4	18517,0	18546,1	23709,3	24299,0	30572,3	32412,6	25983,5	34038,1	31457,0	38908,6	44368,2
M00134	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00135	383,9	712,2	257,6	658,6	702,3	804,5	271,2	109,6	332,1	0,0	301,6	0,0
M00136	3167,1	3154,0	3863,8	4346,7	2949,6	3861,8	2441,1	3398,7	2490,6	1557,3	603,2	354,9
M00137	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00138	9405,5	13633,4	7813,4	9747,2	9691,5	10941,6	20342,6	20611,4	25736,1	6852,0	2111,3	8163,7
M00139	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00140	0,0	203,5	85,9	263,4	0,0	160,9	135,6	0,0	166,0	0,0	0,0	0,0
M00141	0,0	0,0	0,0	263,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	311,5	0,0	0,0
M00142	287,9	610,5	0,0	131,7	0,0	0,0	135,6	109,6	0,0	311,5	0,0	0,0
M00143	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	311,5	0,0	0,0
M00144	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00145	2591,3	3357,5	2404,1	2370,9	2949,6	3379,0	1491,8	1754,2	3486,8	8409,3	3921,0	4614,3
M00146	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	166,0	0,0	0,0	0,0
M00147	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	603,2	0,0
M00148	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00149	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00150	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00151	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	498,1	0,0	0,0	0,0
M00152	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00153	1919,5	1424,4	1202,1	1317,2	1123,7	1609,1	542,5	1096,4	664,2	622,9	603,2	354,9
M00154	575,8	1017,4	685,9	526,9	1264,1	965,4	271,2	548,2	996,2	934,4	603,2	1419,8
M00155	1823,5	1119,2	1459,6	1844,1	421,4	1287,3	542,5	877,1	166,0	622,9	2111,3	709,9
M00156	959,7	1119,2	772,8	1185,5	1264,1	804,5	813,7	548,2	1992,5	3426,0	7238,8	6034,1
M00157	383,9	610,5	257,6	1053,7	140,5	0,0	406,9	328,9	332,1	0,0	301,6	709,9
M00158	479,9	610,5	515,2	1053,7	561,8	804,5	406,9	548,2	830,2	1557,3	1206,5	1774,7
M00159	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	160,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00160	479,9	1017,4	1030,3	526,9	421,4	804,5	406,9	328,9	0,0	934,4	0,0	0,0
M00161	479,9	407,0	858,6	395,2	0,0	643,6	271,2	438,5	830,2	0,0	1206,5	709,9
M00162	96,0	101,7	343,4	131,7	0,0	0,0	0,0	109,6	0,0	0,0	0,0	0,0
M00163	4030,9	4273,2	3348,6	3951,6	3230,5	4344,5	2848,0	3398,7	3818,9	4671,8	1809,7	2129,7
M00164	104131,8	107134,2	94705,5	103267,3	83009,9	98474,8	77166,4	70714,7	68906,4	70077,5	76912,3	59630,8
M00165	575,8	0,0	257,6	263,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	622,9	301,6	0,0
M00166	9789,4	8342,8	9101,3	5268,7	8006,0	4988,1	6645,3	5701,0	3985,0	4671,8	5127,5	5324,2
M00167	2207,4	1017,4	1631,4	658,6	842,7	813,7	678,1	767,4	498,1	311,5	301,6	354,9
M00168	1247,7	203,5	944,5	263,4	1123,7	643,6	678,1	438,5	332,1	622,9	0,0	354,9
M00169	4414,8	5494,1	3606,2	3029,5	3511,4	3539,9	2305,5	2302,3	2324,6	934,4	603,2	709,9
M00170	0,0	305,2	85,9	0,0	0,0	0,0	271,2	0,0	166,0	0,0	0,0	0,0
M00171	287,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00172	383,9	203,5	0,0	263,4	0,0	160,9	135,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M00173	287,9	305,2	257,6	395,2	280,9	321,8	406,9	438,5	166,0	0,0	0,0	354,9
M00174	863,8	915,7	686,9	0,0	140,5	482,7	678,1	438,5	332,1	0,0	603,2	0,0
M00175	9117,5	10581,2	6954,8	5927,3	6180,1	5953,5	3797,3	3179,4	3652,9	5917,7	3619,4	3194,5
M00176	96,0	305,2	85,9	395,2	0,0	160,9	542,5	328,9	166,0	0,0	0,0	354,9
M00177	287,9	101,7	171,7	263,4	140,5	160,9	0,0	219,3	0,0	0,0	0,0	354,9
M00178	0,0	610,5	0,0	131,7	280,9	0,0	135,6	0,0	332,1	0,0	301,6	0,0
M00179	0,0	101,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	109,6	0,0	0,0	0,0	0,0
M00180	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	603,2	0,0
M00181	863,8	610,5	686,9	395,2	421,4	643,6	1084,9	328,9	498,1	311,5	301,6	354,9
M00182	96,0	508,7	429,3	263,4	280,9	321,8	271,2	328,9	166,0	311,5	301,6	354,9
M00183	479,9	101,7	171,7	0,0	0,0	482,7	0,0	0,0	0,0	622,9	603,2	0,0
M00184	383,9	610,5	343,4	131,7	140,5	160,9	678,1	328,9	664,2	934,4	301,6	1064,8
M00185	479,9	1017,4	1030,3	1053,7	1123,7	1126,3	271,2	548,2	830,2	622,9	301,6	0,0
M00186	479,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	332,1	0,0	0,0	354,9
M00187	1727,5	1119,2	1889,0	2766,1	2106,8	2574,5	813,7	1206,0	1328,3	2491,6	904,9	1419,8
M00188	48083,0	49141,3	50229,1	41491,3	34833,2	45536,6	28344,1	36837,4	38023,1	31145,5	25939,0	31945,1
M00189	767,8	0,0	85,9	658,6	0,0	482,7	0,0	219,3	0,0	0,0	0,0	0,0
M00190	671,8	1220,9	601,0	395,2	0,0	482,7	542,5	219,3	0,0	622,9	0,0	0,0
M00191	96,0	305,2	171,7	131,7	280,9	160,9	271,2	109,6	0,0	0,0	603,2	0,0
M00192	1247,7	813,9	858,6	395,2	561,8	804,5	813,7	548,2	996,2	1245,8	0,0	0,0
M00193	0,0	101,7	171,7	0,0	421,4	482,7	271,2	109,6	0,0	0,0	0,0	0,0
M00194	0,0	0,0	601,0	395,2	280,9	965,4	406,9	657,8	166,0	0,0	0,0	0,0
M00195	96,0	203,5	429,3	131,7	140,5	160,9	0,0	0,0	166,0	0,0	0,0	0,0
M00196	287,9	407,0	0,0	131,7	0,0	160,9	135,6	328,9	0,0</			

# 2022年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 山本 祐司

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
農大和牛の作成と肥育を介した新しい農大ブランドの作成	880,000

## 2. 研究組織

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

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

和牛の肥育は、ビタミンAの欠乏を利用して脂肪細胞の分化をはかり、その後高脂質飼料で脂肪交雑（サシ）を形成させるという手順で行われる。和牛は日本の重要な畜産物であるが、特定の品種に偏った牛群構成のため近交系の上昇が著しい。輸入飼料に偏重した飼養体系のため円安や国際穀物需給状況に合わせた輸入飼料の高騰の影響を受けやすい。近年、仔牛価格の高騰も肥育農家の利益を大幅に低下させている。また、健康志向の高まりにより、従来のような脂肪交雑偏重の高価な牛肉を避ける消費者が増えており、赤身の多い健康的な牛肉が求められている。そのなかでグラスビーフと言った牧草中心の飼養体系で育った牛肉注目集めており、このような生産方式は動物福祉の観点からも評価されうる。我が国では循環型農業構築が求められており、国産の飼料を取り入れた生産方式を振興する必要もある。

## 5. 研究目的

黒毛和種と褐毛和種の交雑によりグラスビーフ和牛を作成したところ（仮称、農大和牛）良好な赤身主体の肉質である事が試食によって評価されている。一方で、この牛肉の生産に最も効果的な飼養期間、飼養方法には不明な点が多い。また和牛のグラスビーフに対する消費者の意識や価格帯、収益性、販売方法など不明な点が残っている。牛の受精卵は広く胚移植で用いられているが生産方法はどこも既報の培養方法を採用している。一方で胚移植に由来する産子のエピゲネティックな変化が報告されておりこ

れを改善する方法はない。

本研究では、研究室での生殖技術の実学として、開発した体外受精卵作成技術を用いて黒毛和種の卵子と褐毛種の精液から胚を作成し、ここから農大和牛を作成する。作成した和牛は牧草食で肥育し、2年の肥育期間を設定しその肉質を評価する。併せて、グラスビーフ生産のメリットを整理しその知名度を向上させる。大学農場や外部の牧場で和牛作成する場合予想される様々な飼養形態（1産取りのように次の世代を残す飼養方法等）にかかる経費を明らかにし継続的な情報発信の基盤を作成する。大学での和牛生産を通して学科や大学のブランド力を向上させる。

## 6. 研究（実験）方法

本年度- 農大和牛の胚生産

神奈川食肉センターの黒毛和種卵巣を用いた胚生産を行う。年2頭を対象に移植する。

胚移植には現在研究中の受精後の脱メチル化を亢進した胚を用いる。

大学外で和牛生産可能な牧場を調べ、胚移植を行って農大和牛を生産できる可能性を模索する。交雑種の肥育を行っている農家の雌をレシピエントとして胚移植を行う場合の情報収集を行う。

肥育期間と飼養方法と収益性を明らかにするため、農大和牛の飼育経費算出を行う。

神奈川の肉店もしくは企業と交渉しグラスビーフとして販売する基盤を構築する。農大和牛の商標などを作成する。

## 7. 研究成果

和牛は生産された2頭を肥育中である（600kg超過）。また1頭は3月に分娩し、現在育成中である。

仔牛の育成にかかる経費、成牛の飼養経費を計算した。

雄と雌の双子分娩のため雌牛の繁殖牛としての利用は断念したが、学会等での情報収集から交雑種の1産取り肥育に採算性が高いことが分かり、交雑種を肥育している農家を対象に受精卵移植を行ってもらい、その仔牛を農大和牛として生産することが可能であると考えた。

新しい胚作成方法を試験し得られた胚を凍結保存し移植に備えている。胚の販売用として受精卵証明書付加の胚70個を凍結保管した。また富士農場でのグラスビーフの出荷から販売を行う業者の選定が終わり2023年に試験販売と収益性の確認を行う。

農大和牛のロゴ案を作成し商標としての登録準備を進めている。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

胚生産において、受精後の脱メチル化を亢進した胚が作成できた。この脱メチル化を補助する手法は胚の作成条件を作る上で新しい技術となると考える。グラスフェドの牛肉は研究開始時では市場でも目にしなかったが、昨年2022から2023にかけてメディアでも市場でもグラスフェドの肉やバターなどが出回るようになってきている。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

生産した和牛のグラスビーフを実際に販売し、販売価格帯を調べて収益性を確認する。一般消費者の反応を確認する。農家での移植を進め、農大和牛の外部生産を行いその周辺の条件を検討していく。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Aoki S, Inoue Y, Shinozawa A, Tanaka K, Shirasuna K, Iwata H. miR-17-5p in bovine oviductal fluid affects embryo development. *Mol Cell Endocrinol.* 2022;551:111651.

### 学会発表

- 1) 濱崎真緒、岩田尚孝. 卵胞液は受精後の胚の DNA 脱メチル化を促す. 第 68 回日本生殖医学会学術講演会 石川 2023 年 11 月 9 日 (木)

# 2022年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 谷岡 由梨

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
アグロバクテリウムを介した食用ラン藻スピルリナにおける形質転換系の確立と有用物質生産	800,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	谷岡 由梨	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	研究総括・形質転換体の作製と解析
研究分担者	横井 彩子	農研機構 生物機能利用研究部門 作物ゲノム編集研究・上級研究員	形質転換用ベクターの構築と形質転換系の改良
	渡辺 智	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	形質転換用ベクターの構築と形質転換体の大量培養
	前田 海成	東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所・助教	形質転換用ベクターの構築

## 3. 研究期間

2022年6月22日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

人口増加により 2050 年には世界人口は 93 億人に達すると推測されている。しかし、急激な人口増加に見合った食糧増産が見込めない状況の中、昆虫食、代替肉や微細藻類が食糧資源として検討されている。

微細藻類は機能性因子を含むため家畜等の飼料などに利用され、真核生物のクロレラ（生産量 2,000 t/year）やドナリエラ（1,200 t/year）、原核生物であるラン藻のスピルリナ（3,000 t/year）、ノストック（600 t/year）が世界規模で大量に生産され、食品・製薬会社に供給されている。

ラン藻スピルリナ（*Arthrospira platensis* NIES-39, *A. platensis*）は、アフリカの塩湖チャド湖から単離された糸状体のらせん状構造をしており、食経験が古くからあると共に、健康食品や青色色素フィコシアニンの原材料として産業的に生産されている。さらに、良質のタンパク質、ビタミン・ミネラルを豊富に含み、牛肉や大豆に比べたんぱく質含有量は2倍程度多く含み、栄養的にも非常に有用な食品の一つである。また、消化吸収性に優れており、NASA や JAXA が宇宙食の候補として検討したことがあ

る。

上述したとおり、スピルリナは非常に栄養豊富であり、タンパク質代替食品として有用な候補の一つとして考えられる。当初、スピルリナには植物性食品にほとんど含まれず、動物性食品を主要な供給源とするビタミン B<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>) を多く含むとされていた。しかし、その後、B<sub>12</sub> と考えられていた大部分は B<sub>12</sub> ではなく、シュードビタミン B<sub>12</sub> (シュード B<sub>12</sub>、擬似 B<sub>12</sub>) であることが同定された。シュード B<sub>12</sub> の構造は、B<sub>12</sub> の下方配位子塩基が 5, 6-ジメチルベンズイミダゾールではなくアデニンに置換した構造をしており、ヒトにおいて B<sub>12</sub> の消化吸収に関与する B<sub>12</sub> 結合タンパク質である内因子との親和性が低いため、吸収されない。そのため、スピルリナを利用する上で唯一の栄養欠点となっている。

スピルリナは、非常に有用な食資源であると考え、形質転換系が確立されておらず、形質転換系が確立することでさらに利用が広がると考える。スピルリナの形質転換系の確立が難しい原因の一つに、ゲノム中に 3 つの I 型制限修飾系、8 つの II 型制限修飾系、7 つの単独で存在するメチラーゼを有していることが挙げられている。

## 5. 研究目的

本研究では、上述した栄養的欠点を克服することを最終的な目標とし、まずはスピルリナの形質転換系の構築と実験モデルラン藻を B<sub>12</sub> 合成経路へ改変できるか検討することを今年度の目的として、以下の 3 項目を検討した。

- ① 形質転換体の作出に必要な抗生物質に対するスピルリナの最小生育阻止濃度を調べることを目的とした。各薬剤の最小生育阻止濃度を調べることで、薬剤耐性遺伝子に目的遺伝子を連結したプラスミドを、適切な薬剤濃度で選抜することが可能になるため検討をおこなった。
- ② 植物の形質転換系で用いられているアグロバクテリウムを介した手法をスピルリナへの形質転換に利用した。まず、形質転換効率を明らかにするため、GFP 遺伝子を導入した発現コンストラクトを 2 種作製し検討した。
- ③ 実験モデルラン藻 (*Synechocystis sp.* PCC6803) の B<sub>12</sub> 合成経路への改変を行うために、ラン藻のシュード B<sub>12</sub> 合成経路をゲノムデータベースで確認したところ、B<sub>12</sub> 下方配位子塩基 5,6-ジメチルベンズイミダゾール (5,6-DMB) を合成する *bluB* 遺伝子が欠損していた。ラン藻がシュード B<sub>12</sub> を合成する要因の一つにこの遺伝子の欠損があると考えた。また、5,6-DMB から  $\alpha$ -リバゾール 5 リン酸を合成する酵素遺伝子 *cobT* を、*bluB* と共発現させることでシュード B<sub>12</sub> 合成経路から B<sub>12</sub> 合成へ変換できるか検討をおこなった。

## 6. 研究 (実験) 方法

### 1. 抗生物質に対するスピルリナの最小生育阻止濃度の検討

スピルリナは、*Arthrospira platensis* NIES-39 を用い、SOT 培地、25°C で培養した。使用した細胞は、生育 (Abs 750nm) が 0.5~1.0 の細胞を用いた。薬剤耐性試験にはマルチ 12 ウェルプレートを用い、3 ウェル 1 列毎に異なる薬剤濃度を入れ、スピルリナを各ウェルで培養させ、その生育状態を写真観察と培養後の細胞を回収し Abs 750nm で測定した。観察は、2 週間行い、薬剤の入ったウェルに生育するスピルリナと生育しないスピルリナが見られた場合、その薬剤濃度の間を取り、スピルリナの生育が阻害されはじめる濃度を最小生育阻止濃度とした。薬剤にはスペクチノマイシンとメロペン、リファンピシ



ンを使用した。

## 2、アグロバクテリウムを介したスピルリナの形質転換効率の検討

イソプロピル- $\beta$ -チオガラクトピラノシド (IPTG) 添加により下流の遺伝子発現を誘導できるラン藻由来 *trc* プロモーターに緑色蛍光タンパク質遺伝子 (GFPmut2) とスペクチノマイシン耐性遺伝子を連結した発現カセットを、pCambia1300 ベクターに導入しプラスミド (GFPmut2-Spec/pCambia) を作製した。作製したプラスミドをアグロバクテリウム GVA3301 に導入し、その後スピルリナの形質転換を試みた。形質転換株の単離は、スペクチノマイシンを添加した液体培地で、2 日毎に培地交換を行い、25 あるいは 35°C により 2 週間培養し単離を試みた。GFP の発現は、単離した株を一部採取し、培地中に IPTG を添加後、一晩振とう培養し蛍光顕微鏡で観察した。

一方で、原核藻類は相同組換え修復が優勢であることから、スピルリナにおいて機能していない遺伝子配列中に発現カセットを組み込むことで、スピルリナと相同性を有する遺伝子配列を配したプラスミドを作製し、形質転換効率の向上を試みた。

## 3、実験モデルラン藻 (*Synechocystis sp.* PCC6803) の B<sub>12</sub> 合成経路への改変

*Shinorhizobium melilotii* (*S. melilotii*) の *BluB* は 5,6-DMB を合成することが報告されている。*S. melilotii* *bluB* をカナマイシン耐性遺伝子を有するベクターに連結しプラスミドを作製した。また、*CobT* は、*Methanocaldococcus jannaschii* (*M. jannaschii*) が有する *cobT* を使用した。*CobT* はその配列の違いで、活性化させる下方配位子塩基が異なることが報告されている。*M. jannaschii* *cobT* をスペクチノマイシン耐性遺伝子を有するベクターと連結した。それぞれ完成したプラスミドを *S. PCC6803* に組み込み、抗生物質を添加した 1L の BG-11 培地で 25°C、光量 110 $\mu$ E~165 $\mu$ E で通気培養をした。培養後、10ml をタンパク質抽出用に別回収し、そのほかを藻体と培地に分けて回収し凍結乾燥させそれぞれのコリノイド化合物測定用サンプルとした。ウェスタンブロッティングで酵素タンパク質の発現を確認し、バイオアッセイによるコリノイド化合物量の測定と HPLC フォトダイオードアレイと LC-ESI/MS/MS で B<sub>12</sub> の化合物の同定を行った。

## 7. 研究成果

### 1、抗生物質に対するスピルリナの最小生育阻止濃度の検討

スピルリナに対して 3 種類の薬剤スペクチノマイシン、メロペン、リファンピシンの薬剤耐性試験を行った。SOT 液体培地におけるスペクチノマイシンの最小生育阻止濃度は 0.30~0.35  $\mu$ g/ml であった。さらに、薬剤メロペンとリファンピシンの最小生育阻止濃度は 1  $\mu$ g/ml および 11  $\mu$ g/ml であった。一般的に、スペクチノマイシンの最小生育阻止濃度は、同じ原核生物である大腸菌で 50~100  $\mu$ g/ml、実験モデルラン藻 (*Synechocystis sp.* PCC6803 や *Synechococcus sp.* WH7942) で 40  $\mu$ g/ml であるため、大腸菌や実験モデル藍藻と比較し、スピルリナは非常に低濃度の抗生物質濃度で形質転換時のコロニー単離の選抜が可能になることが明らかとなった (図 1)。

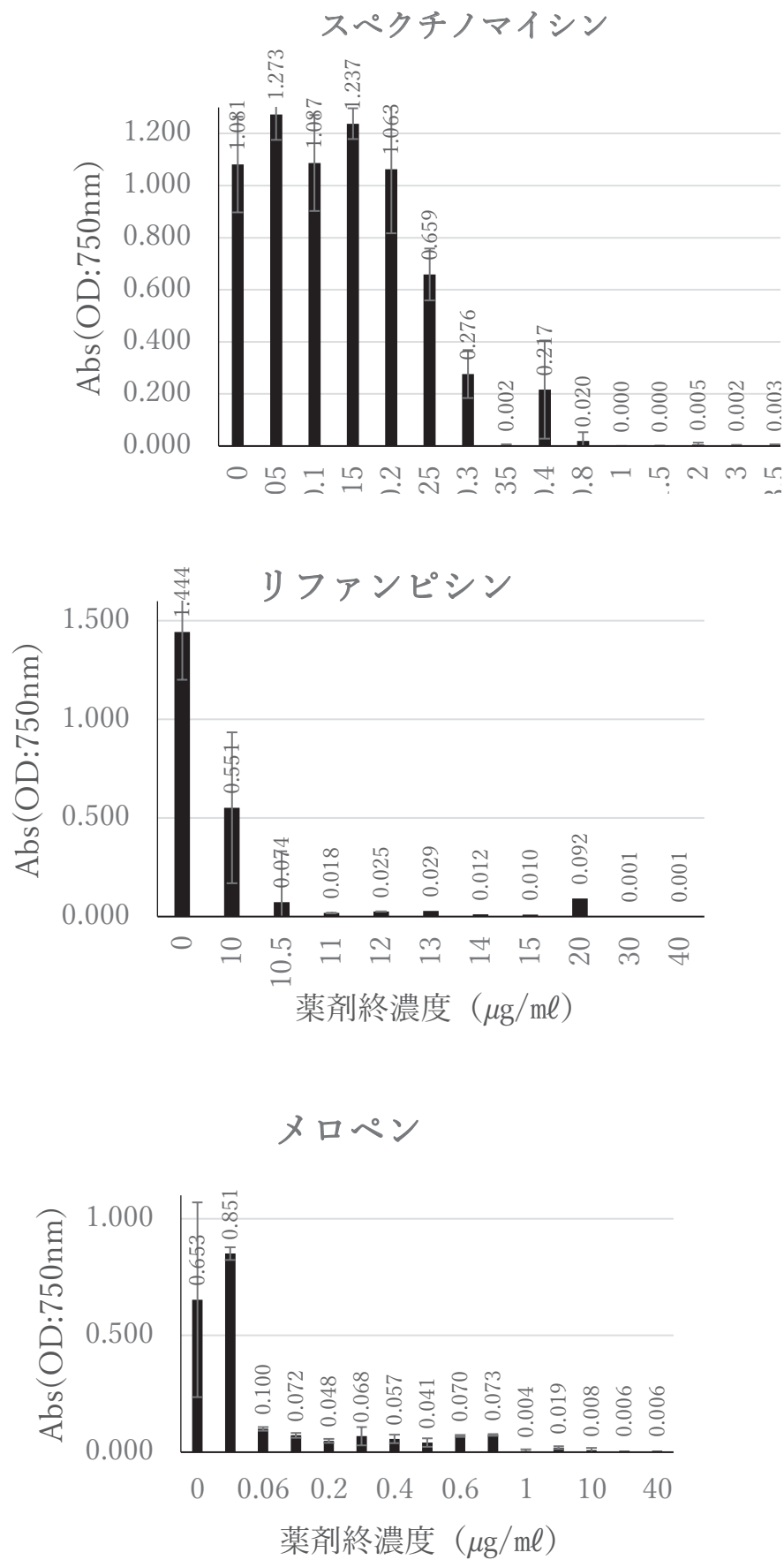


図1 各種抗生物質に対するスピルリナ細胞の最小生育阻止濃度

## 2、アグロバクテリウムを介したスピルリナへの形質転換効率の検討

AB 固形培地で 3 日間培養したアグロバクテリウムに導入した GFPmut2-Spec/pCambia を AAM 溶液に完全に懸濁し、アグロバクテリウムの O.D.660nm が 0.1~0.01 になるよう調整し、スピルリナ細胞は Abs750nm=0.9、0.3 の細胞濁度のものを使用した。形質転換 2 週間後、目視で観察したところ、25 および 35°C 培養の細胞は全て白色に変化し、形質転換の確認や IPTG 添加による GFP 誘導まで至らなかった。

また、スピルリナの相同配列を有した発現カセットを作製後、シーケンス解析により配列を確認したところ、ラン藻の発現プロモーターである *trc* プロモーターに変異が入っていた。今後、変異に関わらず IPTG 誘導により GFP 発現が可能かどうかやプラスミド作製を再度作製し直す必要があるかもしれない。

## 3、実験モデルラン藻 (*Synechocystis sp.* PCC6803、*S.* PCC6803) の B<sub>12</sub> 合成経路への改変

ウェスタンブロッティングにより、*S.* PCC6803 に導入した *bluB* は 25kDa、*cobT* は 38kDa に発現していることを確認した。*bluB* のみを導入した株が合成したコリノイド量は空ベクターのみのコントロールと比較して、1/3 に減少傾向を示し、その UV スペクトルは標準 B<sub>12</sub> の最大吸収波長と一致したことからコリノイド化合物であることを確認した。しかし、HPLC フォトダイオードアレイによる解析は、*BluB* / *S.* PCC6803 が合成するコリノイド化合物のクロマトグラムのピーク保持時間は、標準 B<sub>12</sub> と一致せず、シュード B<sub>12</sub> を合成することが報告されているスピルリナのコリノイド化合物精製物とピーク保持時間が一致した。また、下方配位子塩基を検出することはできなかった。

次に、*bluB* と *cobT* 共発現株のコリノイド化合物の合成量は、*BluB* 単体の発現より *CobT* を共発現させることで合成量は増加傾向を示した。これは、*CobT* がシュード B<sub>12</sub> の下方配位子塩基であるアデニンも活性化することによるものだと推察した。共発現株における HPLC フォトダイオードアレイによる解析でも、B<sub>12</sub> の合成は確認されずシュード B<sub>12</sub> のみ確認された。そのほか、コリノイド化合物の下方配位子塩基であるアデニンや、5,6-DMB も検出されなかった。共発現株の精製コリノイドを LCESI/MS/MS で解析したところ、精製量が少なく完全同定には至らなかったものの、真の B<sub>12</sub> を示唆する結果が得られた。HPLC フォトダイオードアレイの結果と異なる理由は不明であるが、今後は精製量を確保し、再度解析する必要がある。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

なし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

アグロバクテリウムによるスピルリナの形質転換は先行研究が散見されるが、未だ再現性が低く十分に確立された技術はない。報告されている研究を元に、同様に本研究で検討したが、形質転換に至らず、他の方法も含めて模索する必要があると考えられる。最近、スピルリナの形質転換について、細菌 2 種 (*Sphingomonas* と *Microcella*) の存在下で、形質転換可能になることが報告された (Benjamin *et al.*, *Nature Biotech*, 2022)。したがって、スピルリナ相同配列を有する発現コンストラクトを精査し、完成すれば、アグロバクテリウムだけでなく、報告された細菌を使用した、形質転換の検討が可能となるため、今後、検討の余地がある。

一方で、実験モデルラン藻に、B<sub>12</sub> 合成へと変換する候補遺伝子 2 種を導入したが、LCESI/MS/MS による解析によって真の B<sub>12</sub> 合成が示唆されたが、完全同定には至らなかった。今後、*bluB*、*cobT* 単独発現

株を含め、共発現株のコリノイドを LC-ESI/MS/MS で精密に解析を行う予定である。実験モデルラン藻は食用ではないため、今後実験モデルラン藻が真の B<sub>12</sub> 合成が可能になった暁には、安全性や栄養価を含め検討する必要がある。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 藍藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 GT-In のシェード B<sub>12</sub> 合成経路の変換、小磯 香織、今村 優香、前田 海成、渡辺 智、横井 彩子、山内 淳、古庄 律、谷岡 由梨、日本農芸化学会 2023 年度大会

# 2022年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 伊藤 博武

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
大麦の生産安定化にむけた根のストレス応答の解明	800,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	伊藤 博武	生物産業学部 北方圏農学科・教授	大麦の根系評価法の開発・評価
研究分担者	長嶺 敬	中日本農業研究センター 水田利用研究領域品種開発グループ・グループ長	新たな耐湿性大麦の開発
	中野 友貴	中日本農業研究センター 水田利用研究領域品種開発グループ・研究員	大麦の根系形成遺伝子の解析

## 3. 研究期間

2022年6月22日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

大麦の生産性向上には根系制御が重要であり、理想根系は地域環境によって差異がある。湿害がしやすい地域環境である北陸では湿潤下での酸素不足によって根の活力低下が生産量低下の原因となり、排水性の優れる北海道では広く深い根域の確保が超多収化のキーとなる。

## 5. 研究目的

2021年度の共同研究において、東京農大が開発した「ハイドロゲルポリマー培地」によって大麦の根系評価が可能になり、*HvDRO1* と *HvqSOR1* の遺伝子多型が大麦の種子根伸長角度の品種間差異と関連することを明らかにし、さらに、ストレス（酸欠・乾燥）によって根系形態に変化が生じることを可視化した。これらの情報を生かして「環境ストレスに強い気象変動安定型大麦の育種・栽培技術」を開発するためには、見出した根のストレス（酸欠、乾燥）応答を生理学的・遺伝学的に解析する必要がある。そこで本年度は、根系の改良による高い環境適応能力を備えた大麦品種・栽培法の開発を目的とし、昨年度に選出した「酸欠と乾燥ストレスに特徴的な根系応答を示す品種群」を農研機構・東京農大の共

通材料として、1) 土壌栽培での大麦根系のストレス応答の解析、2) 根の内部構造の品種間差異を解析し、酸欠と乾燥ストレスへの特徴的な根系応答について検討した。

## 6. 研究（実験）方法

本研究には、表 1 に示した酸欠ストレスに対し反応を示し、根角度制御遺伝子が異なる 5 品種・系統を選び供試した。

表 1. 2021 度に見出した特徴的ストレス反応・根角度制御遺伝子を有する大麦品種

品種名	特徴	HvDRO1	HvqSOR1	ストレス耐性・応答		根の太さ
		遺伝子型	遺伝子型	酸欠	乾燥	
ファイバースノウ	北陸標準品種 重粘土壌適性高い	浅根型	通常型	弱		太い
ユメサキボシ	四国育成の二条裸麦	通常型	通常型		側根数 増加	
大正麦	六条皮在来品種（富山）	通常型	通常型	強		
ビューファイバー	二条裸麦	通常型	深根型	強		細い 中心空隙が大い
北陸二条裸67号	二条裸麦 二つの根角度制御遺伝子を変異型で持つ	浅根型	深根型			

### 【過湿処理】

土壌には園芸用育苗培土を使用し、デンプンを土壌に対し 1%混せて湛水条件として土壌中の酸素濃度を下げて過湿区とした。

### 【乾燥処理】

対照区は最大用水量（pF1.5）、乾燥区は成長阻害点（pF3）になるように土壌水分を調整した。

### 【栽培条件】

水分条件を調整した土壌や Sky Gel 培地をフラット観察層(Kenis 社製, FK-15) に入れて催芽種子を播種し、20°Cに設定したインキュベータ内で 7 日間生育させた。

### 【調査項目】

草丈、種子根数、種子根 1 本あたりの長さ、総根長、側根数、伸長角度および「通気組織の形成程度(5 段階評価)」の計 7 項目とした。

【酸素欠乏処理における破生通気組織の観察】破生通気組織を観察するために Ito et al. (2016)の方法に準じて Sky Gel 培地を対照区と低酸素区を作成し、各品種の処理区当たり 10 個体の根に対し横断切片を作成して顕微鏡にて観察した。

## 7. 研究成果

### 【乾燥処理】ユメサキボシが乾燥条件で側根を出す能力が高い

乾燥区と対照区の差に着目してみると、表 2 に示した通り全ての形質で処理区間に有意な差は認められなかった。ただし、対照区を 100 としてみた場合に影響の程度は異なっており、草丈では「ビューファイバー」が最も強く影響を受け、次いで「北陸二条裸 67 号」、「ファイバースノウ」、「大正麦」、そして「ユメサキボシ」の順に影響が小さくなった。亀岡ら(2012)と稲永ら(1998)は、作物に対する乾燥ストレスの影響は総根長に現れると報告している。本研究において、「ユメサキボシ」の総根長は対照区と乾燥区ともに最も長く、さらに乾燥条件で有意に長くなっており、乾燥条件の影響が小さかった。

2021年の本研究において、「ユメサキボシ」は skygel 培地で乾燥程度が増すにしたがって水分を効率よく吸収するために側根を発生させている。本研究の土壌による乾燥条件においても、「ユメサキボシ」は側根を増加させることが分かった。以上の結果から、「ユメサキボシ」は供試品種の中で水を効率的に吸水するために根の表面積を大きくしたと考えられた。

表 2. 供試 5 品種に対する乾燥処理による草丈、種子根数、種子根 1 本の長さ、総根長、総根数および最長根の伸長角度

品種名	試験区	草丈	種子根数	種子根1本の長さ	総根長	側根数	伸長角度
		(cm)	(本)	(cm)	(cm)	(本)	(°)
ファイバースノウ	対照区	16.4 (100)	4.9 (100)	6.9 (100)	39.1 (100)	14.6 (100)	51.0 (100)
	乾燥区	15.5 (95)	4.6 (94)	7.8 (112)	35.5 (91)	2.8 (19)	47.2 (92)
ユメサキボシ	対照区	21.1 (100)	5.5 (100)	8.8 (100)	50.3 (100)	22.1 (100)	47.4 (100)
	乾燥区	22.3 (106)	5.6 (102)	9.9 (113)	57.3 (114)	29.6 (134)	51.1 (108)
大正麦	対照区	19.5 (100)	5.8 (100)	10.3 (100)	53.6 (100)	8.7 (100)	44.8 (100)
	乾燥区	18.1 (93)	5.0 (86)	9.8 (95)	50.1 (93)	7.5 (86)	44.5 (99)
ビューファイバー	対照区	11.6 (100)	5.0 (100)	5.4 (100)	28.7 (100)	12.5 (100)	59.6 (100)
	乾燥区	8.7 (75)	4.4 (87)	6.2 (115)	29.1 (102)	1.4 (19)	61.8 (104)
北陸二条裸67号	対照区	9.2 (100)	3.1 (100)	5.7 (100)	20.7 (100)	5.8 (100)	61.9 (100)
	乾燥区	7.6 (83)	4.2 (135)	4.8 (84)	26.5 (128)	2.5 (43)	66.1 (107)
分散分析	処理	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	品種	**	**	**	**	**	**
	交互作用	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.

\*\*と\*は、それぞれ5%と1%水準で有意な差があることを、n.s.は有意な差のないことを示す。

また、カッコ内は対照区に対する割合を示す。

#### 【過湿処理】草丈の矮化、根長の減少(湿害の再現)

本研究の過湿区で使用する土壌は、土壌 Eh が 363 から 393mV の範囲でとなった。試供品種全体の傾向として、過湿区の草丈では対照区よりも短くなる傾向が観測され、過湿条件により有意に短くなった(表 3)。また、根長でも同様に過湿区の方が対照区よりも短くなり、処理区間に有意な差が認められた。最長根の伸長角度は対照区では水平方向に広がり、過湿区では鉛直方向に伸びる傾向が観察された。「ビューファイバー」、「ユメサキボシ」および「大正麦」では処理区間に有意な差が観察されたのに対し、「ファイバースノウ」と「北陸二条裸 67 号」では同様の傾向が見られたものの有意な差が認められなかった。種子根数に着目すると、「北陸二条裸 67 号」のみで有意な差が認められなかった。

全品種の成長は、過湿処理によって著しく劣った。本研究の土壌 Eh は 363 mV から 393 mV の範囲で大麦に対する湿害を再現した。供試全品種の草丈は過湿条件で極端に小さくなり、特に根は著しく短くなった。また、本研究の過湿土壌では、初期成長が極端に悪くなっており、大麦の生育条件には厳しすぎた可能性があるとも考えられた。過湿区は常時湛水条件のため、催芽を行っていても土壌に移動後に枯死する個体も複数あった。

表 3. 供試 5 品種に対する過湿処理による草丈、種子根数、種子根 1 本の長さ、総根長、総根数および最長根の伸長角度

品種名	試験区	草丈	種子根数	種子根1本の長さ	総根長	伸長角度
		(cm)	(本)	(cm)	(cm)	(°)
ビューファイバー	対照区	15.0 (100)	6.1 (100)	7.7 (100)	35.4 (100)	45.1 (100)
	低酸素区	5.8 (39)	5.4 (89)	2.2 (29)	12.7 (36)	59.0 (130)
北陸二条裸67号	対照区	15.1 (100)	5.5 (100)	6.8 (100)	37.8 (100)	63.6 (100)
	低酸素区	9.9 (66)	5.0 (91)	1.9 (28)	10.9 (29)	67.6 (106)
ユメサキボシ	対照区	18.3 (100)	5.1 (100)	6.9 (100)	35.8 (100)	41.9 (100)
	低酸素区	6.8 (37)	4.1 (80)	1.9 (28)	8.4 (24)	69.6 (166)
ファイバースノウ	対照区	20.7 (100)	5.4 (100)	9.4 (100)	50.3 (100)	65.9 (100)
	低酸素区	6.1 (29)	3.5 (65)	3.5 (37)	11.7 (23)	70.1 (106)
大正麦	対照区	19.6 (100)	5.8 (100)	9.7 (100)	56.4 (100)	45.9 (100)
	低酸素区	7.4 (38)	4.5 (78)	3.1 (32)	13.5 (24)	62.4 (136)
分散分析	処理	*	*	*	*	*
	品種	n.s.	*	*	*	*
	交互作用	*	n.s.	n.s.	**	*

\*\*と\*は、それぞれ5%と1%水準で有意な差があることを、n.s.は有意な差のないことを示す。

また、カッコ内は対照区に対する割合を示す。

#### 【酸素欠乏処理】「大正麦」は酸欠条件下で根長が長くなる特異品種

低酸素区で栽培した際に草丈と根に関する全ての形質で品種間に有意な差が認められた(表 4)。草丈では「ファイバースノウ」が最も強く影響を受け、次いで「ビューファイバー」、「ユメサキボシ」の順に影響が小さくなった。それらに対し、「大正麦」と「北陸二条裸 67 号」では低酸素区の方で大きくなった。「北陸二条裸 67 号」は総根長が短い、低酸素に適應するため側根を發達させ、より酸素を吸収したと推測される。対照区より低酸素区の方で根長や側根が成長した「大正麦」は、酸欠ストレスにより強い品種と考えられた。

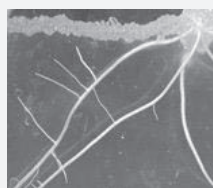
総根長に着目すると、「ビューファイバー」と「大正麦」の 2 品種は低酸素条件で長くなった。酸欠耐性に優れると評価されている「大正麦」と「ビューファイバー」の 2 品種には共通して低酸素区で側根長が發達する特徴が認められた。また「大正麦」では、低酸素区で栽培した際の影響が最も小さく、「草丈」、「種子根 1 本あたりの長さ」、「総根長」および「側根長」において対照区よりも大きな値となった。それらに対して、酸欠ストレスに対して耐性の弱い「ファイバースノウ」では側根が確認できなかった。

低酸素区で栽培した際の伸長角度を確認すると、「ユメサキボシ」、「ファイバースノウ」および「大正麦」の 3 品種が鉛直に伸び、「ビューファイバー」と「北陸二条裸 67 号」は深根性、「ファイバースノウ」は浅根性であることが観察できた。種子根の角度から、草丈が長い品種は浅根型の傾向が見られ、反対に草丈の短い品種は鉛直に伸びる傾向が確認された。

低酸素区でのストレス耐性が強い品種ほど通気組織と側根が發達して総根長も長くなったことから(写真 1)、通気組織の形成率が低酸素条件における個体の成長に影響していると考えられた。



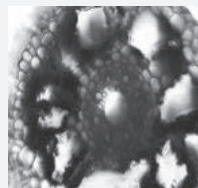
## 酸欠耐性が強い品種(1)



側根が発達

大正麦, ビューファイバー

## 酸欠耐性が強い品種(2)



通気組織が発達

大正麦, ビューファイバー

写真 1. 低酸素条件における側根と通気組織の様子

表 4. 供試 5 品種に対する酸素条件の異なる培地における草丈, 種子根数, 種子根 1 本の長さ, 総根長, 総根数, 最長根の伸長角度および通気組織

品種名	試験区	草丈	種子根数	種子根1本の長さ	総根長	側根長	伸長角度	通気組織
		(cm)	(本)	(cm)	(cm)	(cm)	(°)	
ビューファイバー	対照区	7.9 (100)	5.5 (100)	5.4 (100)	27.8 (100)	0.44 (100)	73.4 (100)	5
	低酸素区	7.8 (99)	5.5 (100)	6.0 (111)	34.4 (124)	0.93 (211)	70.9 (97)	4
北陸二条裸67号	対照区	5.1 (100)	3.7 (100)	4.2 (100)	19.5 (100)	0.64 (100)	59.9 (100)	3
	低酸素区	7.4 (144)	3.4 (92)	4.3 (102)	19.6 (101)	0.52 (81)	56.8 (95)	3
ユメサキボシ	対照区	10.4 (100)	5.5 (100)	4.5 (100)	25.2 (100)	1.34 (100)	47.7 (100)	5
	低酸素区	10.8 (105)	5.4 (98)	3.3 (74)	19.1 (76)	2.20 (164)	53.8 (113)	5
ファイバースノウ	対照区	11.0 (100)	5.8 (100)	2.7 (100)	16.0 (100)	0 (100)	39.2 (100)	1
	低酸素区	9.6 (88)	5.6 (97)	2.8 (104)	15.4 (96)	0 (100)	41.8 (107)	2
大正麦	対照区	10.8 (100)	5.4 (100)	6.6 (100)	37.7 (100)	0.66 (100)	56.6 (100)	5
	低酸素区	17.1 (158)	5.3 (98)	11.0 (167)	57.2 (152)	9.13 (1383)	59.2 (105)	5
分散分析	処理	*	n.s.	*	n.s.	**	n.s.	
	品種	**	**	**	**	**	**	
	交互作用	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	

注1) \*と\*\*はそれぞれ5%と1%水準で有意差ありを、n.s.は有意差なしを、カッコ内は対照区に対する割合を示す。

注2) 通気組織は、各品種における通気組織の形成率を50~60%、61~70%、71~80%、81~90%および91~100%の5段階とし、それぞれを1、2、3、4および5とした。

### 【まとめ】

本研究では乾燥条件と過湿（低酸素）条件で根角度制御遺伝子が異なる 5 品種・系統の初期生育を確認した。その条件は根の成長にストレスとなって表れ、草丈の成長に影響した。ただし、その程度は品種によって異なることが分かった。乾燥条件では、水を効率的に吸水するために総根長と側根を拡大して根の表面積が大きくなった品種の草丈が維持された。酸欠ストレスを強く与えてしまった土壌の過湿条件では品種間の差異を評価出来なかった。ただし、異なる酸素条件にした Sky Gel 培地では品種間での差異が評価され、通気組織と根長や側根が成長する品種が確認され、酸欠ストレスにより強い品種と考えられた。以上の結果から、水分ストレスには根長や側根による根系の表面積の拡大が重要であると考えられた。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究で見出された酸欠条件下で特異的に根が伸びる大正麦は農研機構・中日本農業研究センターでの大麦育種で交配母本として活用され始めている。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本課題で得られた知見は北陸地域の重粘土湿害圃場に適した品種や、北海道でしばしば観察される乾燥ダメージを受ける麦類の安定多収栽培法の開発など気象変動に強い麦づくりのための基盤となる知見である。ただし、今回の成果は従来全く知られていなかった「大麦根のストレス対応現象」に関するものであり、今後は根のストレス適応に関する生理的・遺伝的なメカニズムの解明が重要である。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Polymorphism of HvDRO1 and HvqSOR1 associated with root growth angle in barley accessions. Yuki Nakano, Junpei Konishi, Hirotake Ito, Tsuyoshi Tanaka, Masako Seki, Hideyuki Aoki and Takashi Nagamine *Plant Root* 16:1 – 10. (2022)
- 2) オオムギ種子根の伸長角度の品種間差異. 小西 隼平、中野 友貴、伊藤 博武、長嶺 敬 *根の研究* 30(4): 119 – 123. (2021)

### 学会発表

- 1) 水耕栽培におけるオオムギ根伸長の品種間差異、中野友貴、伊藤博武、青木秀之、長嶺敬 *日本育種学会 第143回講演会（令和5年度春季大会）*

# 2022年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 笠島 真也

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
パン用小麦新品種の高品質・多収栽培技術の早期確立に向けた窒素施肥技術の開発	800,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	笠島 真也	生物産業学部 北方圏農学科・准教授	研究の総括（研究・管理）
研究分担者	松中 仁	北海道農業研究センター・主任研究員	研究の総括（研究・管理）
	寺沢 洋平	北海道農業研究センター・主任研究員	試験担当者
	川口 謙二	北海道農業研究センター・研究員	試験担当者
	長崎 裕一	北海道農業研究センター・研究員	試験担当者
	西尾 善太	農学部 農学科・教授	試験担当者

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

北海道の超強力コムギの「ゆめちから」は子実タンパク質含有率が高く、パン・中華麺用品種では国内で最も生産量が多いが、穂発芽耐性が劣るため生産の安定化が求められている。現在、「ゆめちから」の後継有望系統として穂発芽耐性に優れた「北海266号」が育成され、実需者からも「ゆめちから」と同等のタンパク質含有率であれば、加工上問題ないことが示されている。しかしながら「北海266号」は、穂数が多くなりやすい特徴があり、過繁茂による収量減と子実タンパク質含有率の低下が課題として指摘されている。本研究では、パン用コムギ品種の穂数を適切に管理し、収量と子実タンパク質含有率が「ゆめちから」並みとなるような栽培管理技術を窒素追肥法に着目して開発することを目指す。

## 5. 研究目的

本研究では、オホーツク地域で優良品種置き換えに向けた実証試験を行い、従来の起生期から止葉期等の生育後期の施肥効果を重点的に検討する。これによって、従来品種の栽培技術と異なる「北海266号」の品種特性を活かした栽培技術を早期に確立し、国産パン用小麦の普及推進と安定供給に資する。

## 6. 研究（実験）方法

### 【北農研担当試験】

北農研（芽室町）圃場において、「北海 266 号」の播種量を変えて穂数過多の条件を再現し、登熟不良や倒伏が起りやすい条件で窒素施肥技術の効果を検証した。

### 【東農大担当試験】

美幌みらい農業センター（美幌町）で生産者の慣行法で栽培した「北海 266 号」と「ゆめちから」において実用化に向けた実証試験を行った（図 1）。播種は 2021 年 9 月 17 日に播種量  $8 \text{ g m}^{-2}$ 、条間 12.5 cm のドリル播で行った。基肥は N を  $3.2 \text{ g m}^{-2}$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5$  を  $8 \text{ g m}^{-2}$ 、 $\text{K}_2\text{O}$  を  $3.2 \text{ g m}^{-2}$  を施用した。窒素追肥は施用量と時期（起生期 - 幼穂形成期 - 止葉期）を変えた 4 処理区を設けた。窒素成分で起生期追肥 ( $6 \text{ g m}^{-2}$ ) を施用し、その後幼穂形成期追肥を行わずに止葉期追肥 ( $6 \text{ g m}^{-2}$ ) を施用した慣行区 (6-0-6 区) を設け、起生期追肥を半減して幼穂形成期に分肥した幼穂形成期分肥区 (3-3-6 区) と止葉期に分肥した止葉期分肥区 (3-0-9 区)、さらに止葉期に窒素追肥を増量した止葉期増肥区 (3-0-12 区) を設けた（表 1）。



図 1. 実規模試験の様子

表 1. 各処理区における窒素施用量と時期

処理区	起生期	幼穂形成期	止葉期
慣行区 (6-0-6)	6	0	6
幼穂形成期分肥区 (3-3-6)	3	3	6
止葉期分肥区 (3-0-9)	3	0	9
止葉期増肥区 (3-0-12)	3	0	12

起生期追肥、幼穂形成期追肥、止葉期追肥はそれぞれ 2022 年 4 月 12 日、5 月 6 日、5 月 28 日に行った。

## 7. 研究成果

### 【北農研担当試験の結果】

「北海 266 号」は、いずれの播種量においても、起生期の追肥量を減らすことで穂数が 50~100 本/m<sup>2</sup> 程度減少した。また、900 本/m<sup>2</sup> を超えると、倒伏の影響で収量は減少した。したがって、「北海 266 号」は 900 本程度で「ゆめちから」と同程度の子実重を確保できることが明らかになった。

### 【東農大担当試験の結果】

粗原収量、製品収量、穂数は「北海 266 号」が「ゆめちから」よりも有意に多かった。一方、整粒歩合、千粒重、子実タンパク質含有率は「北海 266 号」が「ゆめちから」よりも有意に低かった。各品種の平均穂数は「北海 266 号」が「ゆめちから」よりも 100 本/m<sup>2</sup> 以上多かったが、「北海 266 号」の止葉期増肥区 (3-0-12 区) では「ゆめちから」並みに低下し、子実タンパク質含有率も「ゆめちから」の慣行区 (6-0-6 区) と 0.1 ポイント差まで増加した (表 2)。

表 2. 窒素施肥法が「北海 266 号」と「ゆめちから」の収量と子実タンパク質含有率に及ぼす影響

		粗原 収量 (g m <sup>-2</sup> )	製品 収量 (g m <sup>-2</sup> )	整粒 歩合 (%)	穂数 (m <sup>-2</sup> )	一穂 粒数	千粒重 (g)	子実タンパク 質含有率 (%)
北海266号	慣行区 (6-0-6)	1007	983	97.7	792	26.8	46.7	13.9
	幼形期分肥区 (3-3-6)	920	897	97.5	714	26.7	47.1	14.0
	止葉期分肥区 (3-0-9)	994	978	98.3	756	27.0	48.1	14.7
	止葉期増肥区 (3-0-12)	848	834	98.4	649	27.7	46.6	15.1
ゆめちから	慣行区 (6-0-6)	813	808	99.4	601	28.1	48.1	15.2
	幼形期分肥区 (3-3-6)	811	808	99.7	579	28.4	49.2	15.6
	止葉期分肥区 (3-0-9)	838	836	99.8	624	27.6	48.6	15.9
	止葉期増肥区 (3-0-12)	887	884	99.7	638	28.6	48.5	15.8
北海266号での平均		942	923	98.0	728	27.0	47.1	14.4
ゆめちからでの平均		837	834	99.6	610	28.2	48.6	15.6
品種		***	***	***	***	ns	*	**
分散分析	処理	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	交互作用	*	*	ns	ns	ns	ns	ns

\*, \*\*, \*\*\*はそれぞれ5%水準, 1%水準, 0.1%水準で有意であり, nsは5%水準で有意でないことを示す。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究成果により、「北海 266 号」の最適穂数が明らかになり、倒伏や登熟不良が起こりにくい栽培管理マニュアルを早期に確立できる。また、「北海 266 号」では起生期の追肥量を減らして止葉期に増肥することにより、「ゆめちから」以上の収量と同等の子実タンパク質含有率を確保できることが実証試験で示された（図 2）。

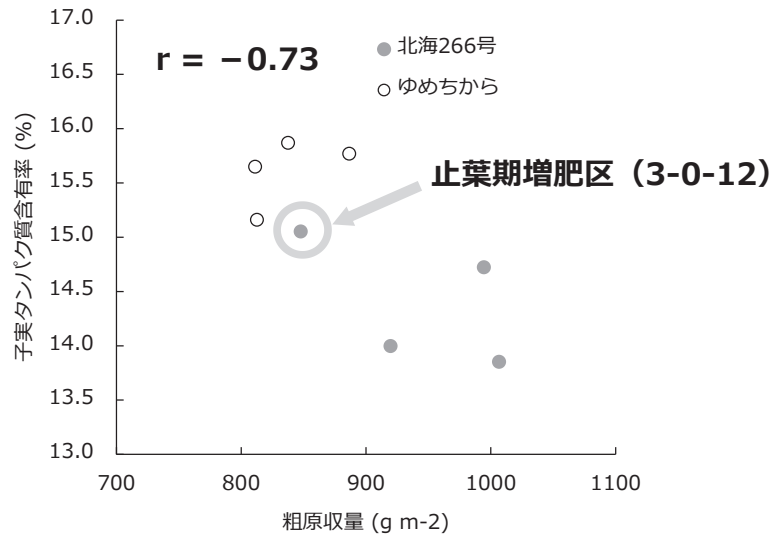


図 2. 収量と子実タンパク質含有率の関係

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年の実証試験により、「北海 266 号」は「ゆめちから」に比べて穂数が増えやすいため、従来の「ゆめちから」の慣行施肥法では極めて多収となる一方で、タンパク質含有率が低くなりやすい。穂数が増えやすい特徴は軟質小麦の「きたほなみ」と似ており、追肥を「きたほなみ」の慣行施肥法と同様に起生期の施与を控える品種と言える。生産現場での普及に向けて、これまで「きたほなみ」で培った穂数制御のノウハウを生かすことが可能となり、その上でタンパク質含有率を高めるために、生育後期の生育量と追肥量の関係について道内各地域の土壌や気象に応じてさらなる検討が必要である。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 笠島真也・古川博規・松中仁・寺沢洋平・川口謙二・長崎裕一・西尾善太 2023. 窒素追肥法が北海道の秋播性パン用コムギ「北海 266 号」の収量と品質に及ぼす影響. 日本作物学会第 255 回講演会要旨集.

# 2022年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者     妙田 貴生    

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
香り豊かな高品質ソバ創出に向けた重要香気成分の解析	800,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	妙田 貴生	生物産業学部 食香粧化学科・教授	研究統括 ソバの香気 の官能評価
研究分担者	石黒 浩二	農研機構 北海道農業研究センター 寒地畑作研究領域 畑作物育種グループ・主席研究員	簡易香気分析法による農研機構開発品種の香り特性解析
	原 尚資	農研機構 北海道農業研究センター 寒地畑作研究領域 畑作物育種グループ・主任研究員	香気成分解析用ソバ栽培および試料調製
	大塚しおり	農研機構 北海道農業研究センター 寒地畑作研究領域 畑作物育種グループ・研究員	収穫時期および貯蔵による香気成分変動評価
	野島 聡	生物産業学部 食香粧化学科・教授	ソバ香気成分の解析 解析及び簡易分析の検討
	金嶋 泰	生物産業学部 食香粧化学科・助教	ソバ香気成分の簡易 分析の検討

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

ソバは、古来より我が国で親しまれる作物であるものの、国内自給率は低く、さらに実需者からは良食味品種の開発が望まれている。一方、ソバの食味で重要となる香りに関しては、未だ全容がつかめていないことから、本研究では官能評価と機器分析を活用して解析を進めている。

現在までの研究において、我が国を代表するソバ品種、常陸秋の新鮮な粉およびそば切り（麺）の香気

評価とそれに寄与する化合物を解析してきた。その結果、ソバ粉の香りは土感、グリーン感、ウッディ感および油感で表現することができ、劣化したそれでは土感、グリーン感あるいは油感の減少することが認められた。この傾向はソバ切りでも同様であったことから、ソバの特徴香気はこれらの香調であると推定した。この結果を香気成分の観点からみると、粉ではメタリック様である Myrcene や 1,8-Cineol、ソバの香りに類似した *trans*-2,3-Epoxyheptanal、グリーンやファッティな香調をもつ脂肪族アルデヒドやピラジジンがソバ香の骨格を成す成分と推定された。これらの化合物は、良食味品種の選抜マーカーになると考えられることから、香りが優れる高品質ソバ品種の開発にはそのキーとなる香気成分の解明と育種現場に応用可能な分析方法の開発が必要である。

## 5. 研究目的

本研究課題では、これまでに得られた成果をソバ育種に実装するために、育種選抜に応用可能な分析法として固相マイクロ抽出法による簡易香気分析法の検討し、昨年度に実施できなかったソバ切りにおける重要香気成分の解析について検討した。

## 6. 研究（実験）方法

### 6.1. 試料

池田製粉（株）より購入した 2022 年度産常陸秋ソバ粉、およびこれを 2 週間室温保存して劣化させたソバ粉を試料とした。

### 6.2. ソバ切りの調製

100 g のソバ粉と 40 mL の水を家庭用ヌードルメーカー（HR2365/01、フィリップス社製）に供し、麺を調製した。これを沸騰水で 2.5 min 茹でて、そば切りとした。

### 6.3. ヘッドスペース固相マイクロ抽出法（HS-SPME）による香気捕集

1.5 g のソバ粉を分析用ガラスバイアルにとり、これに飽和食塩水を 0 - 300  $\mu$ L 加えて 40 - 100°C で加温した。気相にある揮発成分を SPME ワイバー（PDMS/DVB/Carb）で 15 あるいは 30 min. 捕集し、GC-MS 分析の試料とした（図 1）。

### 6.4. ソバ切りからの香気捕集

300 g のソバ切りを均等に細断し、300 mL の塩化メチレンに 1 h 浸漬した。上清を回収した後、同量の塩化メチレンを加えて浸漬する作業を 2 回繰り返した。得られた上清を蒸留装置に供し、 $1 \times 10^{-3}$  Pa の真空度で蒸留して不揮発成分を除去した。揮発成分画分を脱水後、常圧下で蒸留して 200  $\mu$ L に濃縮した。

### 6.5. 匂い嗅ぎポート付きガスクロマトグラフィー（GC-O）分析

GC-O は、スニッフィングポート（OP275, GL Science）が接続された Agilent 7890 A（Agilent technologies）を用いて行った。カラムは DB-FFAP（30 m  $\times$  0.32 mm i.d., 0.25  $\mu$ m film thickness, Agilent technologies）を用いた。コールドオンカラム注入法により 1  $\mu$ L を注入した。カラム温度は、2min.40°C で保持した後、6°C/min にて 230°C まで昇温し、5 分間保持した。キャリアガスには 2.0 mL/min の流量の He を用いた。各香気成分のリテンションインデックス（RI）は、C<sub>9</sub>-C<sub>26</sub> 直鎖アルカンの保持時間をもとに算出した。



## 6.6. ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS)

GC-MS は、質量分析計 (5975C, Agilent technologies) が接続された Agilent 7890 A を用いて行った。カラム温度は、5 分間 40°C で保持した後、6°C/min にて 230°C まで昇温し、5min.保持した。カラム、試料注入法、キャリアガスは 1.2.3.2 GC-O の項と同一の条件で行った。イオン化電圧は 70 eV、質量範囲は  $m/z$  33-450 でマススペクトルを測定した。

## 6.7. Aroma extract dilution analysis (AEDA)法

AEDA により、各香気成分の flavor dilution (FD) 値を求めた。揮発性画分を塩化メチレン 1:1 の倍率で段階希釈して GC-O に供し、香りが検出された最終希釈倍率を FD とした。

# 7. 研究成果

## 7.1. HS-SPME 法 (固相マイクロ抽出法) によるソバ粉香気簡易分析法の検討

そば粉香気の簡易分析法を検討するために、HS-SPME 法の可能性を検討した。まずは揮発成分の捕集時間を比較したところ、15min.と 30min.では捕集成分に大きな相違は見られず、15min.で十分であることがわかった (図 1)。その他、30  $\mu$ L 飽和塩水を添加して加温 (40°C、15 分間) することが効率良い測定条件であることが認められた。そこで、この測定方法で新鮮なそば粉にある特徴成分を検出できるのかを検討した。その結果、 $\alpha$ -Pinene や Terpinene といった新鮮なソバのグリーン感に寄与するであろう化合物は検出できたものの、いわゆるソバ香と感じられる *trans*-2,3-Epoxyhexanal や土感に寄与する Pyrazine 類は検出できなかった。

以上より、本簡易測定法ではグリーン感に関わる炭化水素が指標化合物になると推察された。現在は、北農研で本年度に収穫されたソバ系統について同様の測定を実施しており、その結果を照らし合わせながら最終的な指標成分を決定したいと考えている。

## 7.2. ソバ切りの重要香気成分の解析

昨年度の研究により、ソバ粉とソバ切りの香調は類似していることが官能評価により明らかとなった。そこで、この結果を化学的側面より評価するために、ソバ切りより香気成分を抽出し分析した。香気成分をスクリーニングする AEDA 法を実施し、香気寄与度の指標となる FD 値を表 1 に示した。バニラ香を有する Vanillin の FD 値が 1024 と最も高く、ソバ様の *trans*-2,3-Epoxyhexanal、メタリックな (*Z*)-1,5-Octadien-3-one、ファッティーな (*E,E*)-2,4-Nonadienal および (*E,E*)-2,4-Decadienal、穀物用の未同定成分が 256 と続いた。その他、 $C_7$ - $C_{10}$  アルデヒドやその epoxide、Pyrazine 類、Lactone 類および Phenol 類等により香気が形成されていた。昨年度のソバ粉のそれをみると、メタリック香を有する炭化水素やモノテルペンアルコール、*trans*-2,3-Epoxyhexanal、Pyrazine 類および Lactone 類が重要香気成分であった。粉とソバ切りで大きな成分変化はないものと推察された一方、加工工程で炭化水素類やモノテルペンアルコールは消失し、脂質の酸化に由来する脂肪族アルデヒド類の生成および香気強度の増加が認められた。この結果は、官能的に変化があまりなかったグリーン香や油感では質的变化が起こっていることを示唆するものである。なお、ソバ切りおよび粉で検出された *trans*-2,3-Epoxyhexanal は新鮮なソバ香の芯を司る香気と感じ取られ、*trans*-2,3-Epoxyheptanal、*trans*-2,3-Epoxydodecanal、*trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal および *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-dodecanal といった epoxide が重なることでいわゆるソバのグリーン感を特徴づけているものと考えられた。

以上より、ソバ切りでは加工工程で生成あるいは消失した香気成分はあるものの、ソバ粉にある重要香気成分は、ソバ切りに移行するものと考えられた。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今後の課題は、本研究で設定した明簡易分析法の有用性を確認することと、重要香気成分を標的にした育種マーカーの選定となる。

## 10. 公表した成果一覧

特になし

表1 そば切りにおける重要香気成分

Retention Index (DB-FFAP)	推定化合物	香調	FD 値
2592	Vanillin	バニラ	1024
1328	<i>trans</i> -2,3-Epoxyhexanal	そば様	256
1378	( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-one	メタリック	256
1729	( <i>E,E</i> )-2,4-Nonadienal	ファッティ	256
1827	( <i>E,E</i> )-2,4-Decadienal	ファッティ	256
2129	Unidentified	穀物	256
1300	1-Octen-3-one	キノコ	64
1430	<i>trans</i> -2,3-Epoxyheptanal	そば様	64
1459	Methional	イモ	64
1513	2-Isobutyl-3-methoxypyrazine	ピーマン	64
1538	6-Nonen-8-one	ファッティ	64
2183	$\delta$ -Decalactone	フルーティ	64
2279	$\gamma$ -Undecalactone	ラクトン、フルーティ	64
1588	( <i>E,Z</i> )-2,6-Nonadienal	うり・きゅうり	16
1593	3-Ethyl-5-methyl-2-vinylpyrazine	墨汁様	16
1769	( <i>E,Z</i> )-2,4-Decadienal	プラスチック	16
1903	Heptanoic acid	段ボール	16
2314	$\alpha$ -Sinensal	ウッディ	16
2450	4-Vinylphenol	ゼラニウム,グリーン感	16
1150	( <i>Z</i> )-3-Hexenal	グリーン	4
1528	3,5-Dimethyl-2-vinylpyrazine	グリーン	4
1613	( <i>Z</i> )-2-Decenal	グリーン・ファッティ	4
1764	( <i>E,Z</i> )-2,4-Decadienal	ファッティ	4
1946	2-Phenyl-2-butenal	グリーン、メタリック	4
1939	<i>trans</i> -2,3-Epoxydodecanal	重いグリーン	4
2562	2-Phenylacetate	フラワリー	4
1194	3-Methyl-1-butanol	穀物	1
1654	( <i>E</i> )-2-Decenal	グリーン・ファッティ	1
2038	<i>trans</i> -4,5-Epoxy-( <i>E</i> )-2-decenal	メタリック	1
2156	<i>trans</i> -4,5-Epoxy-( <i>E</i> )-2-dodecenal	グリーン	1

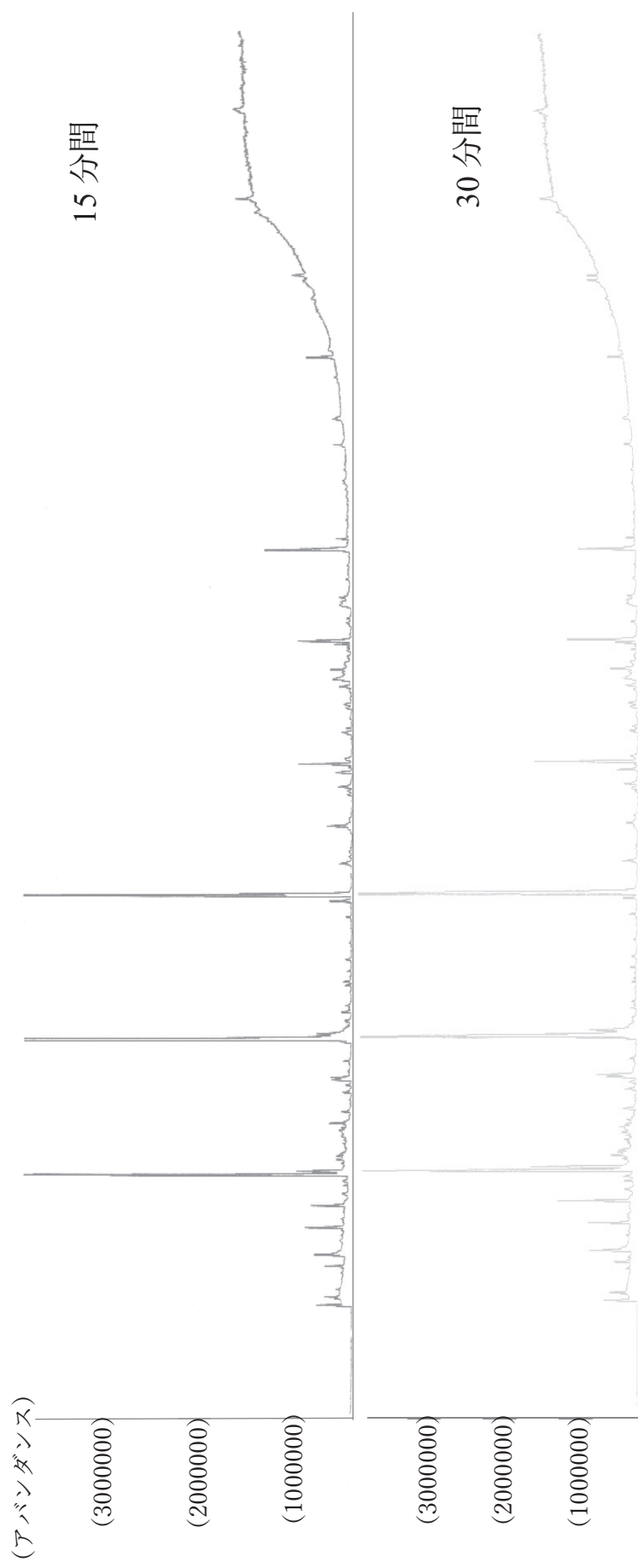


図1 ソバ粉香気における SPME ファイバーへの吸着時間が及ぼす影響

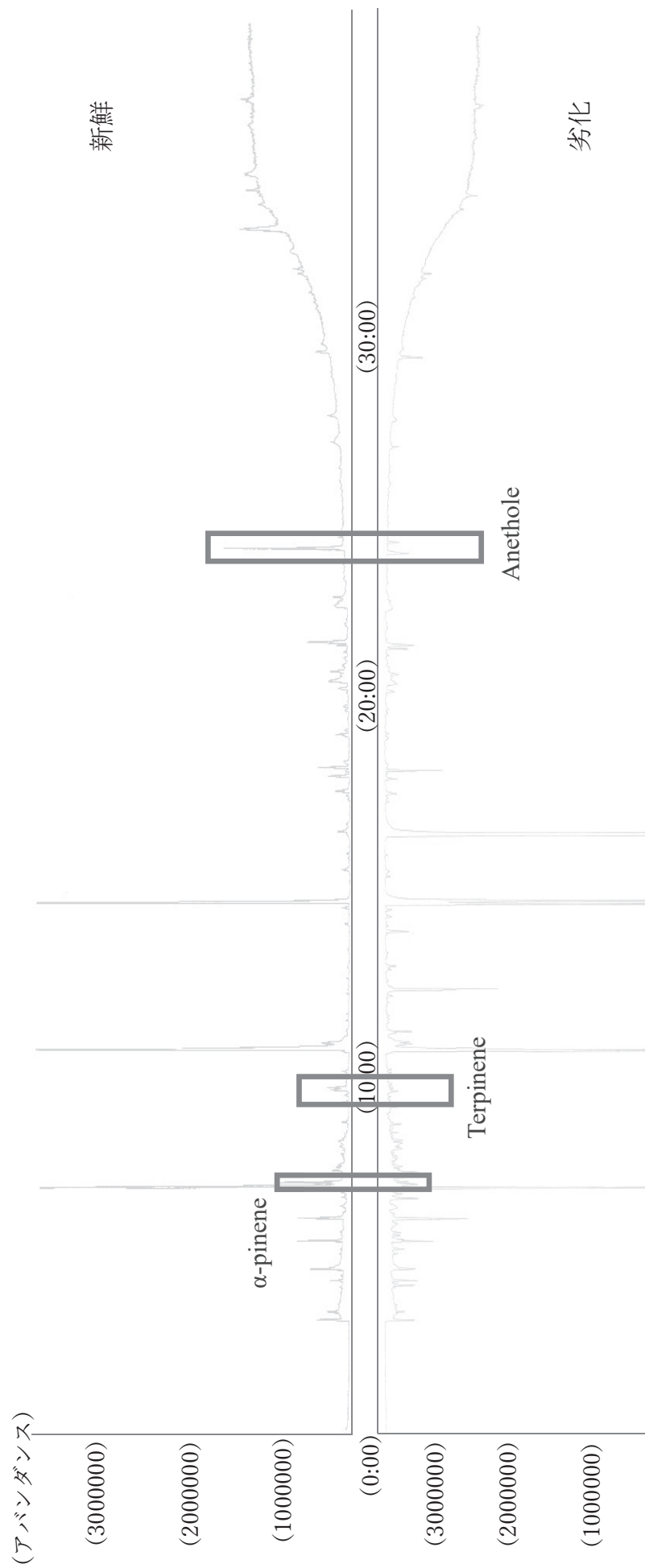


図2 SPME 法における新鮮および劣化させたソバ粉の揮発成分の比較

# 2022年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 篠澤 章久

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ゲノム改変による環境適応能力を高めた作物育種への挑戦	1,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	篠澤 章久	生命科学部 バイオサイエンス学 科・助教	研究統括・データの取得解析
研究分担者	伊澤かんな	生命科学部 バイオサイエンス学 科・准教授	ゲノム改変の実施・形質評価
	小松 憲治	農学部 生物資源開発学科・准教授	作物資源の提供・形質評価

## 3. 研究期間

2022年7月13日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

降雨による土壤中の過剰水分により引き起こされる根圏の酸素不足に起因し、植物が生育阻害を受ける現象を湿害と言う。近年は特に豪雨等による水害の発生件数も増加しており、湿害による畑作物への被害拡大が懸念されている。一般的に畑作物は湿害に対して感受性を示すため、畑作物の耐湿性強化は喫緊の課題の一つとなっている。畑作物の中でもアブラナはなたね油の原料となる種子を生産する作物であり、また、湿害に対して感受性である。なたね油は、我々の生活の中で利用される植物由来の油の中で、最も消費される植物油である。すなわち、アブラナ種子は重要な作物と言える。しかしながら、国内でのアブラナ栽培は、湿害の起こりやすい水田転換畑の活用が多い事も相まって、生産量は伸び悩んでいる。それゆえ、アブラナ種子生産の現状は、その殆どを国外で生産、輸入に頼る形となっている。

## 5. 研究目的

これまでのアブラナの湿害に対する調査は土壌系を用いて実施された事例の報告がある。しかし、土壌中では栄養分や温度、酸化還元状態などを均一な状態に制御する事は難しい。そのため、土壌系での調査は、低酸素以外にも生育阻害に影響を与えるパラメーターが多数存在している状態での評価と考えられる。このことは、直接的な低酸素耐性機構に関与する遺伝子の同定を困難にさせる可能性がある。

そこで本研究では、水耕によるアブラナ低酸素処理系の確立、そして、アブラナの耐湿性強化を目指し、低酸素応答機構解明に向けて、根を低酸素状態に晒した際の表現系解析を実施する事とした。最終的には、遺伝子を特定し CRISPR-Cas9 システムによるゲノム編集を行い、作出した個体の評価を次世代育種センターで実施する事で、ゲノム育種へと繋げて行くことを目指す。

## 6. 研究（実験）方法

生育条件は、室温 25℃、明期 16 時間(6:00 ~ 22:00)、暗期 8 時間(22:00 ~ 6:00)、光量は 180-250  $\mu$  mol/m<sup>2</sup>/s とした。バーミキュライトに播種し、ホグランド溶液(無機栄養を含む植物の水耕栽培溶液の一つ)を与え、2 週間アブラナを生育させた。根を傷つけないようにバーミキュライトから取り出し、ホグランド溶液による水耕栽培系で 2~3 日前培養を行った。その後、低酸素処理を実施した。低酸素処理には、ホグランド溶液の水耕液に 0.1%の寒天を加え対流による酸素の拡散を抑制、加えて窒素をバブリングする事により、溶存酸素量を 0.7~0.2 mg/L まで減少させた水耕液を用いる。

## 7. 研究成果

アブラナを低酸素の水耕液にて処理すると、徐々に葉が萎れ始め、約 1 時間程度でピークに達した。その後も低酸素処理を継続すると、萎れた葉は徐々に再び展開していった。約 1 日後には萎れがほとんど回復した。その後、葉の萎れが回復したアブラナを通常のホグランド溶液に戻すと、低酸素処理を施していないコントロールと同程度の生育を示した。一方で、葉の萎れが回復した後も低酸素処理を継続した場合、2~3 日後には葉が黄色くなり、1 週間後には、葉の枯死を伴う著しい生育阻害が観察された。すなわち、アブラナは萎れた葉を回復させる一過的な低酸素耐性機構を有する事が明らかとなった。葉の萎れは根からの水分供給の低下に起因すると考えており、アブラナは低酸素シグナルに応答し根からの給水システムを調節する事で一過的に低酸素状態に適応する耐性機構を有すると推察している。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究によってアブラナの水耕系による低酸素評価系を確立した。今後、開発した評価系により、低酸素耐性関与遺伝子の機能評価を実施して行く。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

現在は、この現象に関与する遺伝子群を明らかにする目的で、低酸素処理 1 時間後の根全体をサンプルとした RNA-seq 解析の実施を計画している。本解析の実施により、遺伝子発現情報を踏まえてアブラナの低酸素耐性に関与する分子メカニズムの推察及び、分子育種のターゲットとする遺伝子の探索を行う予定である。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 篠澤 章久, 高橋 宏和, 中園 幹生, 松本 隆, 伊澤 かなな, 中村 進一 アブラナの湿害に起因する低酸素耐性機構の解析 日本植物学会第 87 回大会(2023) 1pAD10
- 2) 篠澤 章久, 高橋 宏和, 中園 幹生, 松本 隆, 伊澤 かなな, 中村 進一 アブラナの湿害に起因する低酸素応答の調査 日本育種学会第 144 回講演会(2023) 510

# 2022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 気候変動に 具体的対策を	3,600,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	小松 憲治	農学部 生物資源開発学科・准教授	総括・遺伝子マッピング
研究分担者	宇野 雄一	神戸大学大学院 農学研究科・教授	分子生物学実験
	関 功介	長野県野菜花き試験場・主任研究員	圃場試験
	篠澤 章久	生命科学部 バイオサイエンス学科・助教	ゲノムシーケンス

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の3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。防除のために広大な圃場全てを土壌消毒することは困難であるため、抵抗性品種の導入が主な対応策となる。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抵抗性に関わる遺伝子座（QTL）を同定し、育種選抜DNA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を知財化し（特許第6969742号）、大手種苗メーカー4社と特許権実施契約を交わし、抵抗性品種の育成を進めてきた。一方、我々が見出した抵抗性育種素材（以下VII85）は、レース1, 2に抵抗性を示すが、レース3には抵抗性を示さないという欠点があった。さらに、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、レース3抵抗性系統を掛け合わせると、レース1と3抵抗性の両立ができないという問題が浮かび上がった。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、両者に抵抗性を



示す系統「98-830」を選抜することに成功した。この「98-830」は、レース 2 抵抗性も有し、3 つのレース全てに対し強力な抵抗性を示す非常に有望な育種素材である。

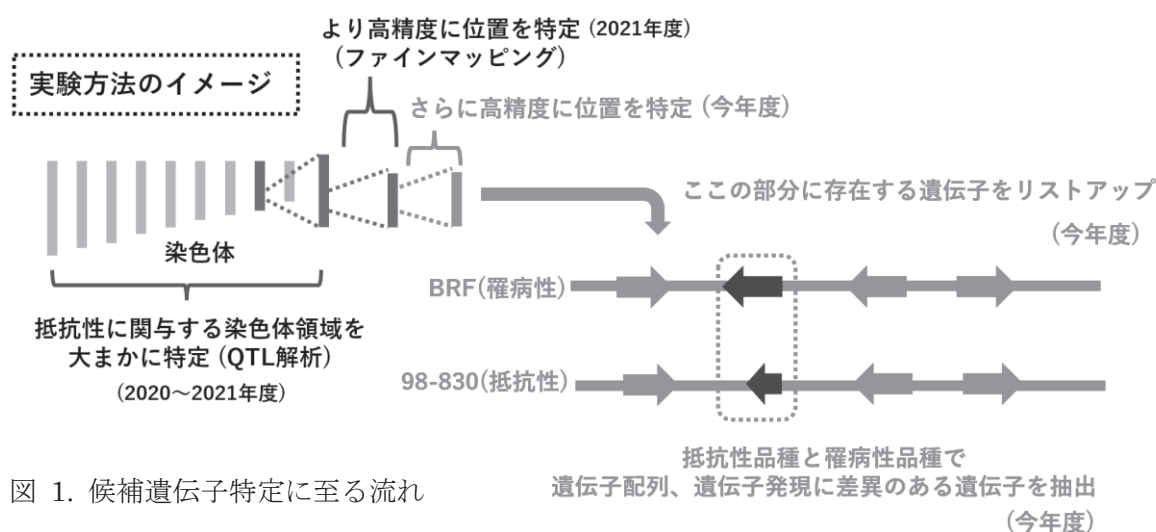
## 5. 研究目的

本研究では、この全レースに抵抗性を示す系統「98-830」が有するレース 3 抵抗性 QTL の同定を試み、実際の育種現場で使うことを想定した利便性の高い育種選抜 DNA マーカーの開発を行うことを目標とする。また、将来的に抵抗性遺伝子本体の同定と、抵抗性の分子メカニズムの解明を目的とする研究へと発展させることを目的に、抵抗性遺伝子候補の同定に向けた予備的研究も本プロジェクトの中で行う。

## 6. 研究（実験）方法

### 1. レタス根腐病レース 3 抵抗性遺伝子候補の同定 (図 1)

DNA マーカーは抵抗性遺伝子と強く連鎖していることが望ましい。そのため、抵抗性遺伝子の位置を明らかにすることはマーカーを設計する上でも重要である。抵抗性に関わる遺伝子座を特定する目的で、昨年度から進めていたレタス根腐病レース 3 抵抗性 QTL 「*qFOL8.3*」の精密な位置特定 (ファインマッピング) を行った。その結果、限定された領域内に座乗する遺伝子の特定を試みた。特定された遺伝子配列に対して、抵抗性系統「98-830」と罹病性系統「晩抽レッドファイヤ (以下 BRF)」のゲノム配列の比較、遺伝子発現パターンの比較を行い、抵抗性遺伝子候補の特定を試みた。



### 2. レタス根腐病レース 3 抵抗性識別育種マーカーの開発 (図 2)

#### i) マーカー候補となる多型の探索

上記の実験で限定されたゲノム領域内において、「98-830」と「BRF」のゲノム配列の比較を行い、利便性の良い育種マーカーを設計できる DNA 多型の探索を行った。現場で使いやすいマーカーとは、安価に実験が行え、かつ特殊な実験技術を要さないものである。具体的には 1 塩基多型や十数 bp から数十 bp の配列長の違いを検出しようとするより、数百 bp 程度の大きな配列長の違いを検出する方が実験的に容易であるため、より大きな配列の違いがあるゲノム領域を探索した。

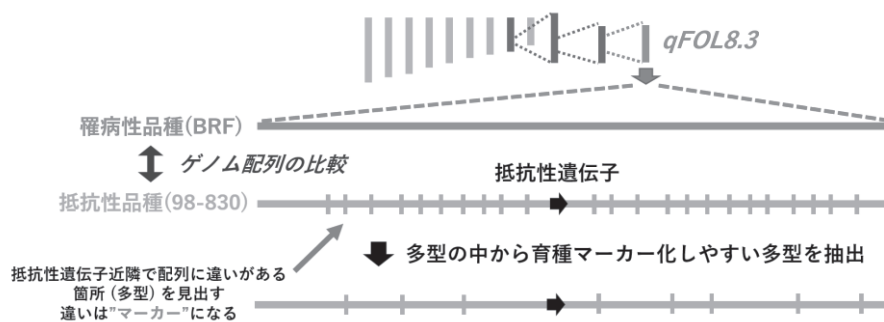


図 2. 実用性の高い多型の選抜

ii) レタスゲノム多型データベースの作成と最適 DNA マーカーの探索 (図 3)

上記の実験 (i) で見出された DNA 多型は「98-830」と「BRF」のゲノムを識別するものである。実際の育種では抵抗性育種素材である「98-830」と、種苗会社が用意した系統の掛け合わせを行うが、その際に「98-830」と「BRF」の間で見出された DNA 多型が、用意された掛け合わせ系統で利用できるとは限らない。そのため、マーカーは「98-830」ゲノムに特異的に見られる多型に対して設計されることが望ましい。本研究では手持ちのレタス品種(系統)のゲノム配列と公共データベースに登録されているレタスゲノム配列に対する全ゲノム多型解析を行い、様々なレタス系統においてゲノムのどこに、どのような多型が存在するかを検索できるデータベースの構築を試み、構築されたデータベースを用いて実験 (i) から見出された DNA 多型のうち、「98-830」を含むごく少数の系統にしか存在しない、レアな DNA 多型(特異マーカー)の探索を行った。

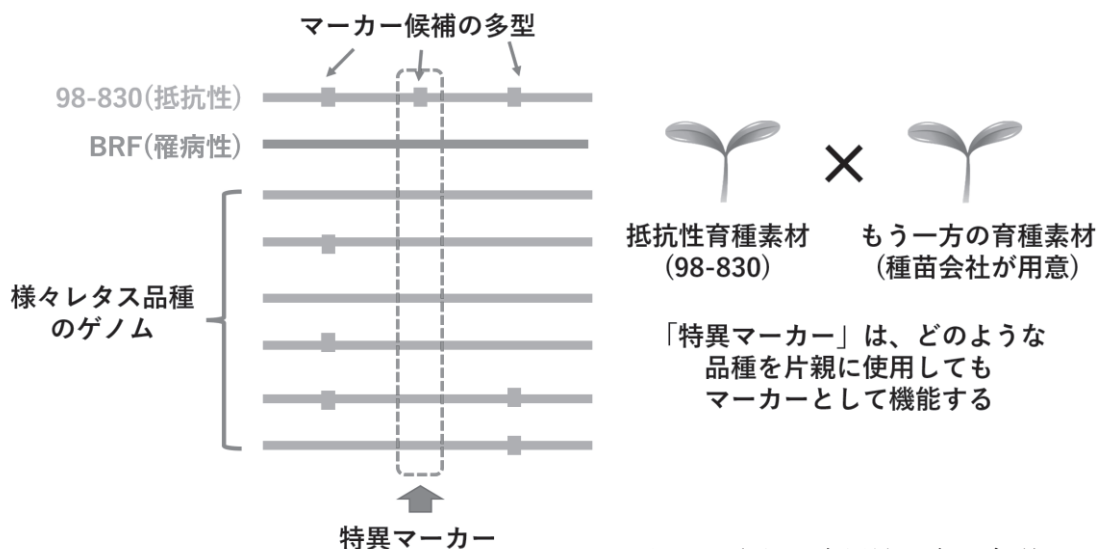


図 3. さらに実用性の高い多型の選抜

## 7. 研究成果

### 1. レタス根腐病レース 3 抵抗性遺伝子候補の同定

*qFOL8.3* を、最終的に 0.76Mb の領域に限定した。知財化を検討しているため、具体的な位置情報は言及しない。同領域を詳しく分析した結果、レタスリファレンスゲノム配列には 13 個の遺伝子が座乗していた。また、同領域からリファレンスゲノムでは注釈付けされていないが、RNA の発現が確認された推定の遺伝子様配列を 1 つ新たに発見した。加えて、リファレンスゲノムにはない 98-830 系統が独自に持つゲノム配列を特定し、その配列内に遺伝子様の配列が存在するかを分析したが、遺伝子様配

列は認められなかったため、最終的に *qFOL8.3* 内には計 14 の遺伝子が座乗していると判断した。この 14 個の遺伝子に対して、「98-830」と「BRF」の間でゲノム配列および遺伝子発現の比較を行った。その結果、遺伝子発現パターンや遺伝子配列が異なる遺伝子を 2 つ見出した。この 2 つの遺伝子（以下、遺伝子 A、遺伝子 B）は染色体上でオーバーラップしており、遺伝子座を共有していた。遺伝子 A は根の細胞壁構成に関与することが示唆されるタンパク質をコードする遺伝子で、イントロン配列に品種間差が認められた。遺伝子 B は、遺伝子 A のイントロン内に位置するタンパク質をコードしない未知のノンコーディング RNA であった。遺伝子 B は、抵抗性系統「98-830」、罹病性系統「BRF」でのみ遺伝子発現が見られ、レース 3 に強くも弱くもない系統では発現が認められなかった。また転写産物の構造が「98-830」と「BRF」で違っていた。特に遺伝子 B は、転写産物の構造、発現パターンに違いがあり、抵抗性への関与が示唆された。

この遺伝子 A, B を抵抗性遺伝子の候補とし、この遺伝子近傍で育種マーカーを設計することにした。

## 2. レタス根腐病レース 3 抵抗性識別育種マーカーの開発

*qFOL8.3* のゲノム配列を「98-830」と「BRF」で比較した結果、98-830 で挿入配列 8 箇所と欠失 2 箇所を見出した。次に 125 系統のレタスのゲノム配列の全ゲノム多型データを作成し、見出された多型候補の中から「98-830」特異的に見られる多型の抽出を行い、最終的に 3 つの有望な多型、マーカー A, B, C が選抜された(図 4)。マーカー A (トランスポゾン挿入) は遺伝子 A のイントロン領域に位置する挿入配列である。つまり候補遺伝子上に設計されたマーカーで、125 系統中 20 系統 (98-830 も含む) で認められた多型である (16% の出現頻度)。

一方、マーカー B (約 300 bp の欠失)、マーカー C (トランスポゾン挿入) は 125 系統中 5 系統 (98-830 も含む) で見られたレアな多型であった (4% の出現頻度)。98-830 以外で、同様の多型が検出された 4 系統は、*qFOL8.3* のゲノム配列が「98-830」とほぼ同一であったことから、「98-830」同様にレース 3 抵抗性を持つ兄弟系統だと考えられる。多型の位置は候補遺伝子①から約 67kb (マーカー B, 約 300 bp の欠失)、100kb (マーカー C, トランスポゾン挿入) 下流に位置し、育種マーカーとして実用上問題ない (十分な連鎖性のある) 距離関係にある。

A, B, C いずれのマーカーも候補遺伝子との連鎖性を優先する場合はマーカー A を、掛け合わせ親の遺伝型がマーカー A と同一である場合はマーカー B, C の使用が推奨される。マーカー B, C 多型の出現頻度は 4% であったことから、どのような系統を掛け合わせ親に用いても多型を示すことが期待できる。我々は、このような掛け合わせ親に関係なく使用できる DNA マーカーを「ユニバーサルマーカー」と呼称することにした。特にマーカー B は約 300 bp の PCR 産物の差をみるもので、PCR 増幅効率や識別性の点で非常に利便性が高い。

多系統から成る全ゲノム多型情報はユニバーサルマーカーを設計する上で非常に有用であった。昨年末に、テロメアからもう一端のテロメアまでを解読した超高精度のレタスのリファレンスゲノム (version 11) が公開された。先に作成した多型データベースは、古いゲノムバージョンをベースに作成されたものであるため、現在、計算環境の拡充を行い、残りの研究期間を使って最新のゲノム情報をベースに、分析系統数を 5 倍に拡充した多型データへのアップデートを進めている。

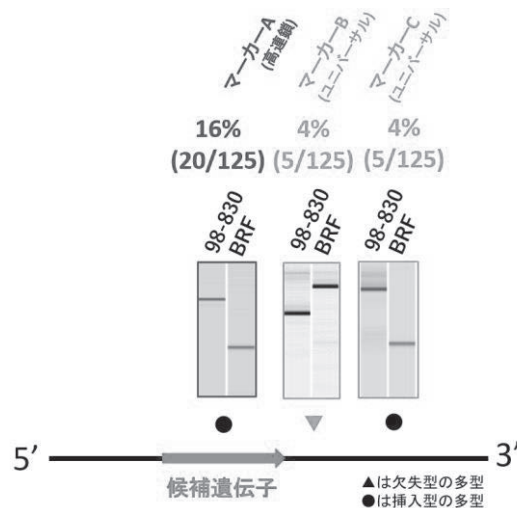


図4. 開発されたレタス根腐病レース3 抵抗性識別育種マーカー  
(知財化を検討しているため、用いている電気泳動図はイメージ図である)

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本プロジェクトでは全ゲノム情報を用いることで、識別性が良く、また掛け合わせ親に関係なく使用できる非常に利便性の高いレタス根腐病レース3 抵抗性識別マーカーを設計することに成功した。また本マーカーを設計する上で作成されたレタス多型データは、根腐病レース1,2 抵抗性識別マーカーのような既存のDNA 育種マーカーの再設計(最適化)や、将来開発される育種マーカーの探索・設計にも活用することができる。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

根腐病抵抗性を付与する有力な候補遺伝子が見つかったが、その候補遺伝子が真に抵抗性に関与するかは不明である。今後は、罹病性系統で候補遺伝子を発現させる、またはゲノム編集で抵抗性遺伝子を破壊した場合の挙動を観察することで抵抗性への関与を証明する必要がある。また抵抗性に関与すると仮定した場合の分子メカニズムも不明であり、それも合わせて解明する必要がある。今回、同定した候補遺伝子は既知の病害抵抗性遺伝子ではないため、機能が解明できれば植物の病害抵抗性に関する新たな知見が得られる可能性がある。

## 10. 公表した成果一覧

知財化を検討しているため、公の場での発表を控えている。

# 2022年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

## 研究成果報告書

研究代表者 今井 伸夫

### 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)	予算額(円)
生物多様性レジリエンスを踏まえた半自然草地の保全・再生手法の開発	生物多様性 SDGs 15.陸上資源	3,350,000

### 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・教授	地域連携
	加藤 拓	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	土壌
	山田 晋	農学部 生物資源開発学科・教授	植生回復

### 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の3年目）

### 4. 研究の背景（当初）

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

さらに、半自然草地の生物多様性保全において見過ごされてきた最も深刻な問題は、多くの半自然草地では既に生物多様性の回復力（レジリエンス）が損なわれている可能性である。先述のように、伝統的管理が行われている半自然草地は生物多様性が高い、と言われてきた。しかし、本研究グループは、こうした半自然草原でさえも実はその半分以上には草原性希少種が生育していないことを見出し、この理由として数～数十年以上前の耕作履歴の影響を指摘した（東急財団 2018-19）。この伝統的管理草地における生物多様性レジリエンスの喪失が普遍的な現象であるならば、生物多様な半自然草地の再生を目指した保全活動の多くは失敗するだろう。まず生物多様性レジリエンス喪失の未然防止と管理計画策定のためにそのメカニズムを解明すること、そして草地復元が求められる場所では希少種を確実に再導入

できるような手法を確立することが求められる。

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

## 5. 研究目的

本研究は、以下の4つを目的とする。

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

## 6. 研究（実験）方法

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

### 1) 生物多様性レジリエンス喪失のメカニズム

これまで山梨県小菅村において、土地利用変化、植物の種・系統的多様性、埋土種子相について調べてきた。今年度は、植物の機能形質と、昆虫の種多様性について調査を行った。

#### a) 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に基づき、半自然草地を以下の11タイプに分けた；耕作地 + 5つの植生タイプ [土地境界部などでの景観管理（管理）、ワラビなど山菜草地（山菜）、農業マルチ用のススキ草地（ススキ）、放棄から数年度の草地（放棄草地）と低木林（放棄低木）] × 2つの利用履歴（履歴あり、履歴なし）。

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回植生調査を行ってきた。130プロット全体で96科229属324種、そのうちレッドリスト種が39種見られた。優占種83種及びレッドリスト種8種の計91種について、各種につき3枚の健全葉をサンプリングした。葉の厚さ、生重、面積、葉緑素濃度、力学的強度、タンニン量、生活型を調べた。各形質のプロット平均値を、種の相対的な存在量により重みづけするCommunity Weighted Mean（CWM）で示した。

#### b) 昆虫の種多様性

既存の1×1mプロットを1×3mに拡張し、15回/プロットのスウィーピングを、春と秋に行った。アブラムシ科を除く、体長もしくは開長2mm以上の昆虫綱について、実体顕微鏡を用いて形態的種同

定を行った。春と秋季の種同定を終え、それぞれ 1674 個体 449 種、916 個体 241 種を記録した。出現種を、9つの食性ギルドに分類した〔植物質食（外部葉食、内部組織食、腐植食）、動物質食（捕食、寄生、腐肉食）、菌類食、雑食、不明〕。また鞘翅目、半翅目、一部の膜翅目（アリ科、ハバチ科、ヒメハナバチ科）については、7つの依存環境に分類した（森林、ノイバラ群落、ヨモギ群落、イネ科、ワラビ類、畑地雑草群落、不明もしくはジェネラリスト）。

## 2) 希少種の再導入手法の確立

陣馬山頂付近の開発で発生した現地の土壌を盛りつけた北東向き斜面の裸地「A区」と、既存の南東向き斜面草地「B区」を試験区とした。両区の表土とも、全窒素含量、有効態リン酸含量の点から貧栄養と判断され、土壌 pH は弱酸性であった。両試験区では、下述の6月植栽時および10月調査直後に地上植生の刈り取りを行った。アキノキリンソウ (*Solidago virgaurea* L. subsp. *asiatica*) とコオニユリ (*Lilium leichtlinii*) の種子は2020年9月～11月に陣馬山頂で採取した。同年10月～11月に培土（鹿沼土、腐葉土、緩効性肥料マグアンプKの混合）を敷いたトレーに播種し、その後東京農業大学厚木キャンパス内の圃場で育成した。発芽した個体を2021年3月上旬にトレーから直径12cmのポットに移植し、両種それぞれ60個ほどの苗を用意した。6月下旬、発育良好な個体を2種それぞれ40個体、計80個体選び、A区、B区に各種20個体ずつ植栽した。植栽前に両種の葉数と最大葉長を計測した。その後、植栽個体の残存状況、葉数、最大葉長、地上シュート長、花の有無、各植栽個体の地際の相対光量子束密度などを計測した。

## 3) 草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化

阿蘇外輪山(標高670-1040m)の北部～南東部5地域（町古閑、黒川、中原、高森、尾下）にある、以下の5タイプの植生を対象とした；春に火入れ、夏-秋に刈払い機や鎌などで手刈りする草地（伝統的）、春に火入れする草地（火入れ）、管理放棄された草地(放棄)、放棄草地が遷移して成立した二次林（二次林）、スギ植林地(スギ)。二次林は、さらに遷移段階によって6段階に分けた；クラス1（ツクシヤブウツギ群落）、2（ノリウツギ群落）、3（クヌギ群落）、4（ケクロモジ-コナラ群落）、5（イヌシデ-コナラ群落）、6（ブナ群落）。

2022年7-10月、5×5mプロットを伝統的、火入れ、放棄草地、低木林（クラス1と2）にそれぞれ1-4個、10×10mプロットを高木林（クラス3、4、5、6）とスギにそれぞれ1個設置した。低木林では dbh 1 cm、高木林とスギ林では5 cm 以上（5×5 m サブプロット内で1 cm 以上）の樹木について毎木調査を行い、地上部バイオマスをアロメトリー式から算出した。

各プロット内に1×1m コドラートを3つ設置し、植生高、出現種、各種のバイオマス割合を記録した。伝統的草地の4プロット×3コドラート内の地上部を全て刈取り、乾燥、計量した（他のプロットでは刈取りは未実施）。各プロット内の2-3コドラートにおいて、表層リター2層と30cm深までの土壌を採取し、画分ごとへの仕分け、乾燥、計量、鉍物質土壌については含水率、bulk density、pHを測定した。

## 4) 草地管理に関わる多様な主体による持続的草地管理の達成支援

草地管理に関わる多様な主体による持続的草地管理の社会調査として、これまで、牧野組合と草原保全ボランティアに対してアンケート調査を行ってきた。本年度は多様なステークホルダーに対してヒアリング調査を行った。

2022年9月6日の阿蘇草原再生協議会のワークショップにおいて、牧野組合、環境省、地域住民、研究者ら計約28名に対し、持続的草原保全管理のための支援に関してヒアリングを行った。

## 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

#### a) 植物の機能形質

耕作履歴は、葉の形態（葉の厚さやLMA）、光合成活性（葉緑素濃度）には影響を及ぼさなかったが、物理性（力学的強度）、化学性（タンニン濃度）、生活型に影響を及ぼしていた（図1a）。耕作履歴のある草地では、植物の力学的強度が高く、タンニン濃度が低く、一年生植物が多かった。このように、過

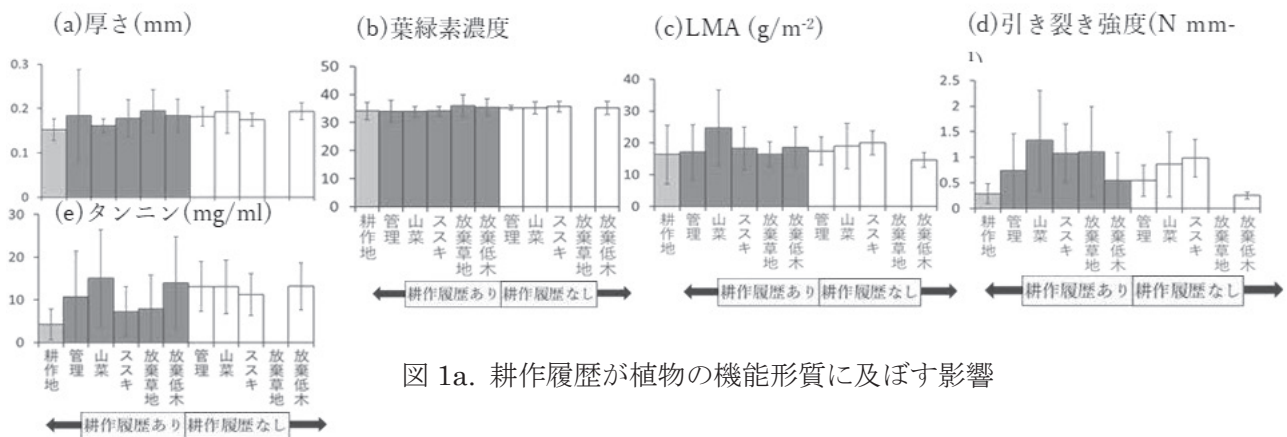


図 1a. 耕作履歴が植物の機能形質に及ぼす影響

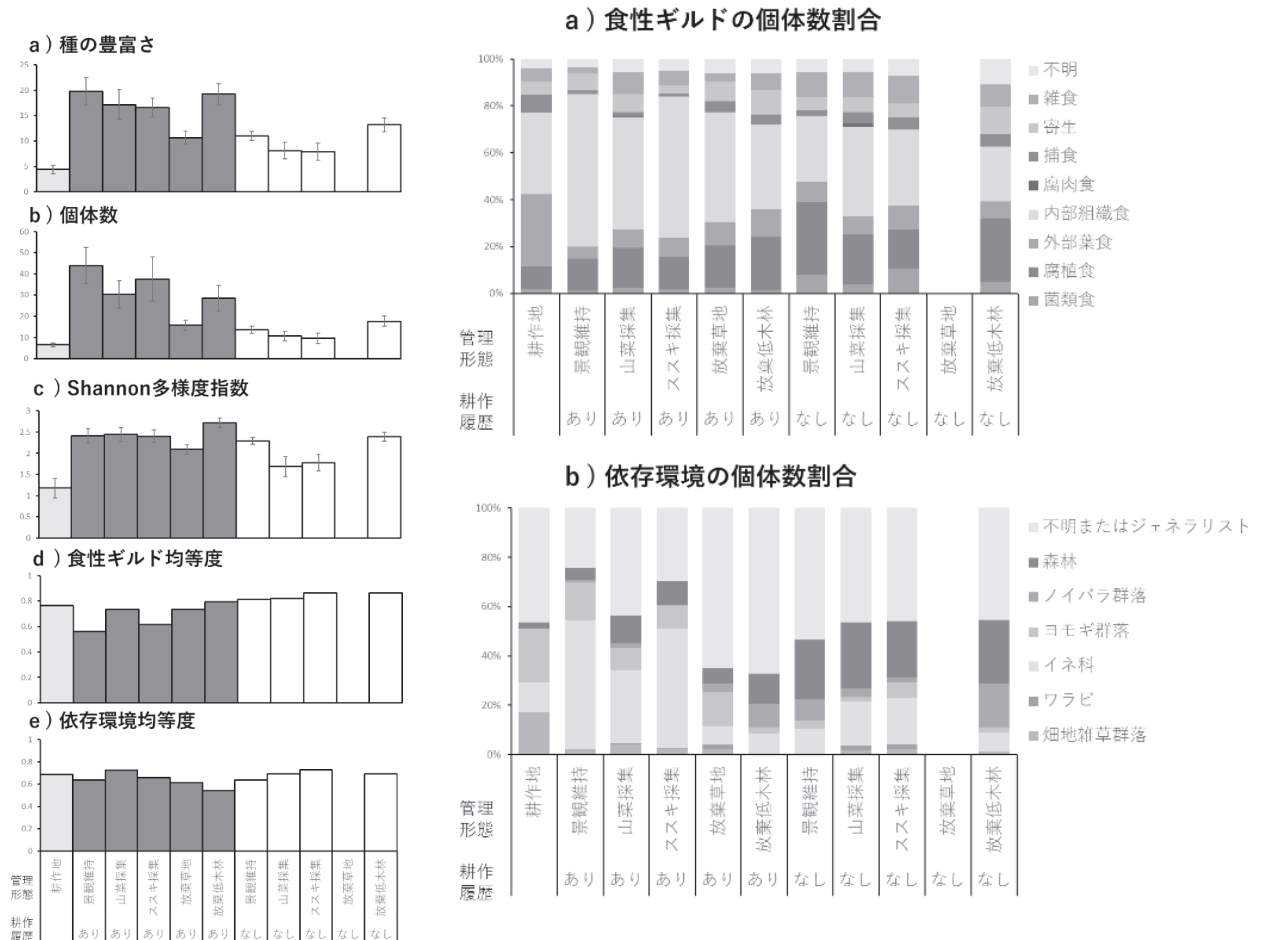


図 1b. 昆虫の各種多様度

図 1c. 昆虫の植生ギルドと依存環境の個体数割合



去の土壌攪乱（耕作）は、現在同じ草刈り管理（地上部の攪乱）が行われていたとしても、短寿命で、被食防衛への化学的投資が低く（物理的投資は高い）、分散・競争能力が高い種の定着につながる事が分かった。

## b) 節足動物の種多様性

昆虫の種多様性は、植物とは異なり、むしろ耕作履歴のある草地で高かった（図 1b）。一方、食性ギルドの多様性は、内部組織食者など特定ギルドの個体数が増加したため耕作履歴のある草地で低下した（図 1b, c）。こうしたギルド構造の変化は、耕作履歴の有無に由来する、植物の種組成や機能的形質の変化（前節）が、昆虫群集の食性の一部に影響をもたらしたためであると考えられる。

また種多様性は、草刈り回数が最も多い景観維持草地で高く、山菜採集草地とススキ採集草地でやや低く、放棄草地で最低を示した（図 1b）。つまり、種多様性は攪乱強度の低下とともに低下した。しかし、放棄からさらに時間が経過すると放棄低木林になるが、ここではむしろ種多様性が増加した（図 1b）。これは、植生構造の発達によって空間的な複雑さが増したためだと考えられる。

## 2) 希少種の再導入手法の確立

区画 A では、2021 年にハナタデが最優占していたが、2022 年には二年草のメマツヨイグサが最優占した。区画 B では、兩年ともにカラムシが最優占種であった。アキノキリンソウの開花率は、両区画で昨年よりも高まった。コオニユリは 2022 年に区画 A で 1 個体のみ開花した。

残存状況を表 1 に示す。区画 A においては各種とも高い水準で残存が確認できたが、区画 B のコオニユリは 2022 年 10 月に著しく数を減らした。

アキノキリンソウについては、区画 A と比べて区画 B で 2022 年 9 月の葉数、草高の値が有意に大きく、区画 A で優占するイタドリの被度が高くなるほど 2022 年 6 月の葉長が短かった。コオニユリでは、区画 B における 2022 年 9 月の残存個体数が区画 A よりも有意に少なく、相対光量子束密度が高いほど 2022 年 9 月の草高が高かった。

本研究の結果、現在までのところ、当初の想定にして、区画 A の両種の残存率は区画 B より低くならなかった。区画 A では、予想通り裸地造成から 2 年間で、植被率が著しく上昇したものの、最優占種はロゼット状で生育するメマツヨイグサであった。このため、植栽個体と優占種との間の光資源競争が激化しなかったものと考えられる。メマツヨイグサは二年草であり、区画 A は今後、植生が発達する過程にあり、今後も成立植生が大きく変化していると考えられる。

アキノキリンソウは、植栽 2 年目に多くの個体が開花した。本種は発芽後 2 年目に開花することが、既往文献でも報告されているが、既往文献とは異なる低山地においても、同様の結果が得られた。本研究では、区画 A よりも区画 B で葉数が多く、草高、開花率が高かった。アキノキリンソウは日当たりの良い立地を好むため、北東向きの区画 A よりも南東向きの区画 B で生育が促進されたと考えられる。一方、相対光量子束密度と本種の生育状況との間には有意差が認められなかった。本調査では、機器を鉛直上方に向け、光量測定を行ったが、区画 A と区画 B は斜面方位がそれぞれ北傾斜、南傾斜と異なるため、地表が受ける光量は、本

表1 植栽個体の調査日別の残存率

種	コオニユリ		アキノキリンソウ	
	A	B	A	B
2021年9月	100%(20/20)	95%(19/20)	100%(20/20)	95%(19/20)
2021年10月	100%(20/20)	85%(17/20)	100%(20/20)	90%(18/20)
2022年6月	100%(20/20)	85%(17/20)	90%(18/20)	75%(15/20)
2022年9月	85%(17/20)	30%(6/20)	85%(17/20)	70%(14/20)

調査の測定値が同一でも異なることが影響した可能性がある。

コオニユリの 2022 年 9 月の残存率はとくに区画 B で著しく低下した。2021 年にも区画 B において初秋から地上部が消失する個体が複数みられたが、2022 年 6 月には、地上部が再びを確認された。次年度にも再び出芽する可能性が高い。コオニユリはほとんどの個体が開花に至らなかったため、次年度以降も成長を追跡する。

### 3) 草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化

土壌 pH は、土壌が浅いほど、また遷移が進むにつれて低下した。植物や土壌微生物は栄養塩獲得のために有機酸を滲出するため、根量が多く分解活性の高い土壌表層ほど pH は低くなりやすい。また、遷移の進行とともに土壌が発達し根バイオマス（粗根を含む）が増加するため、pH が低下したのだと考えられる。一方、草地の pH はやや高かったが、これは火入れ時に供給される微粒炭がアルカリに傾きやすい特性を持ったためだと考えられる。

植生高や地上部バイオマスは、草地で最低で遷移が進むほど増加した。二次林では、最大 dbh や大径木密度も遷移が進むほど増加した。細根密度は、草地と二次林間で顕著な差はなかった。草地の地上部バイオマスが森林よりもかなり低いことを考慮すると、草地は森林と比べると偏って、地下部に大量の炭素を細根バイオマスとして貯留していることが分かった。

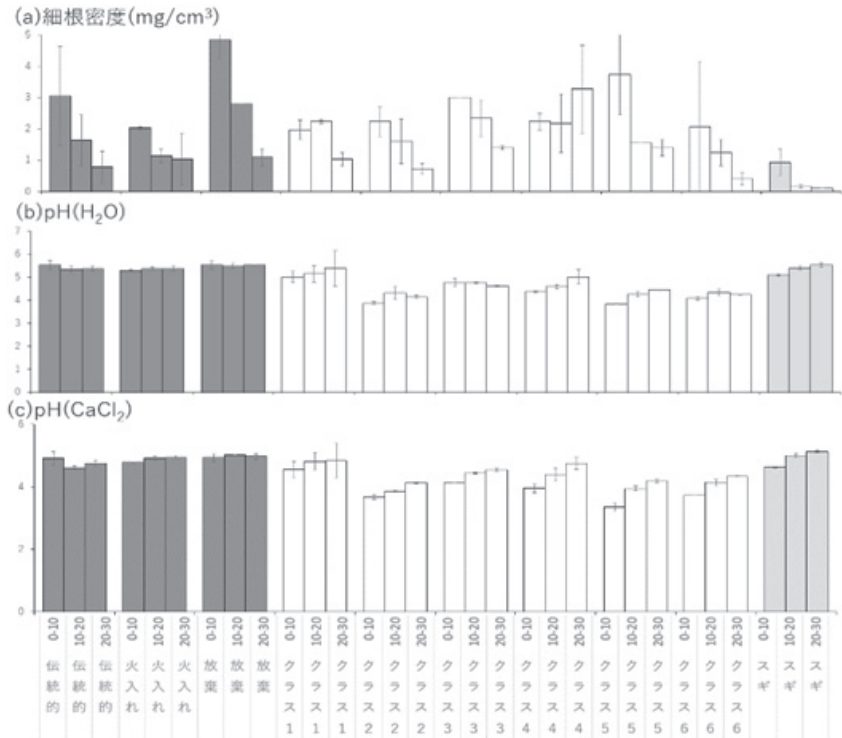


図 3a. 阿蘇の草原と二次林における土壌 pH と細根密度

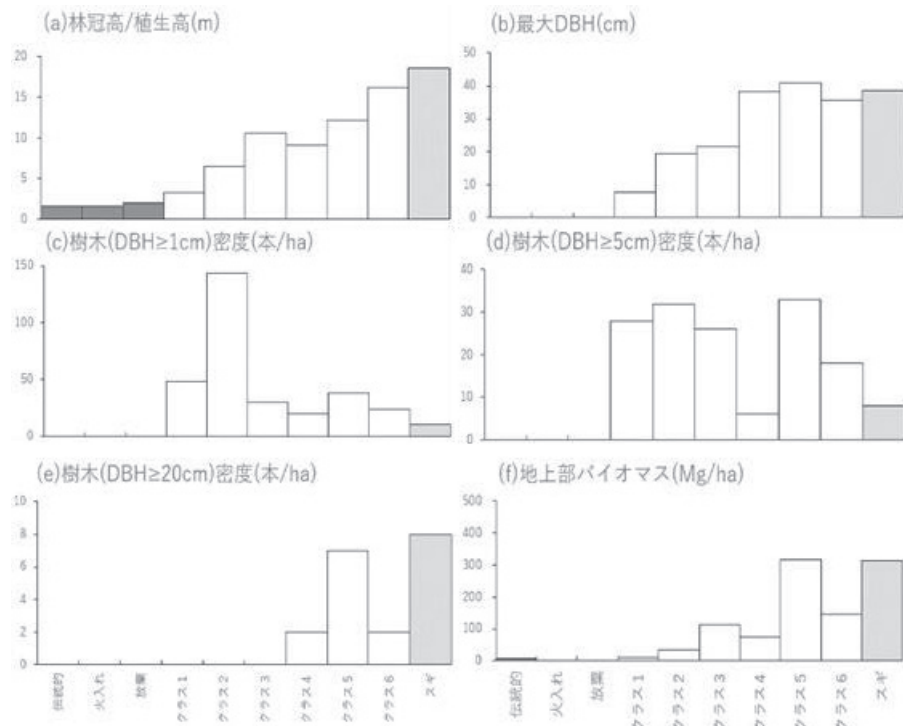


図 3b. 阿蘇の草原と二次林における林分構造

#### 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

野焼きで周囲の人工林や車両に延焼してしまった場合、各牧野組合が延焼補償を支払っており、近年延焼を懸念し野焼きを中止する牧野組合が増加していることが明らかとなった。そして、牧野組合や地域住民からは、牧野組合が担っている延焼補償を草原保全活動の枠組みの中で支援する仕組みの必要性が挙げられた。

### 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

アウトリーチに至った成果はまだない。

なお、本課題の阿蘇の草原管理と土壌に関する成果に着想を得て、本課題とほぼ同じメンバーで、2022年度トヨタ研究助成に「半自然草地の保全にむけた炭素主流化によるカーボンオフセット創出ー温帯域最大の野焼き草地・阿蘇での検証」を申請し、採用された（代表：町田怜子、2年700万円、2022/10/1より）。

### 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

これまで、半自然草地の重要性はおもに、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。本研究を通して、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(1)、希少種の再導入手法の確立(2)、持続的草地管理の達成(4)に関して多くの知見が得られた。しかし、草地が持つ重要な生態系サービスである「炭素貯留による温暖化緩和機能」については、九州・阿蘇の火入れ草地における調査を開始したものの、コロナ影響などにより調査区設置とごく一部の生態調査にとどまった。そこで、本課題メンバーに加え、森林資源経済学を専門としカーボンオフセット排出削減・吸収の算定方法に詳しい茂木もも子助教（地域創成科学科）とともに、トヨタ財団の研究助成に応募したところ採用された（代表：町田玲子、半自然草地の保全にむけた炭素主流化によるカーボンオフセット創出ー温帯域最大の野焼き草地・阿蘇での検証、2022年度後期より2年）。近年、景観の管理戦略の策定において、生物多様性だけ、炭素貯留だけ、といった単一指標ではなく、多数の生態系機能を同時評価する必要性が強調されている（multifunctionality、Neyret et al. 2023 Nature Sustain.）。本課題および次課題を、半自然草地の多機能性を総合的に評価する研究へとつなげたいと考えている。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) 町田怜子・愛甲哲也・松島 肇・武 正憲・庄子康・御手洗洋蔵・三上直之（2022）阿蘇くじゅう国立公園における二次草原保全活動ボランティアの活動継続と制約の要因. ランドスケープ研究 85:637-640
- 2) Yamada S, Saito H, Nemoto M et al. (2023) Relationship between dominant species, vegetation composition and species attributes in spring and autumn on a riverbank: implications for river management to enhance ecosystem functions. Landscape and Ecological Engineering 19:435–446
- 3) 山田晋（2023）イギリスの農村・都市空間における草原性外来草本の植栽利用の考え方と手法. ランドスケープ研究 86:342-345

その他

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

# 2022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	3,250,000

## 2. 研究組織

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

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の3年目）

## 4. 研究の背景（当初）

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

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

## 5. 研究目的

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

## 6. 研究（実験）方法

2022年度に実施した計画について、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 降雨強度と連続干天のリスク判定手法の拡張

一昨年度に開発した表面流（土壌侵食）の直接的な引き金となる湛水の発生（降雨強度が土壌の浸透能を超える瞬間）の直接観測手法について、土壌の種類を変えて検討を行うとともに、雨水の浸透／湛水のメカニズムに関する理論的な側面から検討を行った。また、作物（果樹を含む）の水ストレス状態の経時的測定手法について検討した。

#### 1-2 連続干天のリスク判定手法の確立

作物の物栽試験を通して、連続干天による土壌水分の乾燥程度や深さごとの水分消費、また地下部（根系）も含めた生育や収量を詳細に観測・計測し、作物の生育に支障をきたす連続干天日の特定について検討した。

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

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

福島県三島町を対象に、気候変動シナリオ下での積雪・融雪量の減少を解析し、森林破壊と災害リスクの因果関係を小流域レベルで検討した。

#### 2-2 リスクとなる降雨強度と連続干天の長期変動傾向の解明

項目1-2で行う作物の水ストレスの測定結果をもとにした連続干天日の発生頻度について、過去の気象データを精査して長期変動傾向の検討を行った。

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

干害のリスクは、雨水を土壌に積極的に浸透させて下層での貯留を促すとともに、さらに作物根の根を下層に発達させることによって低減できると考えられる。雨滴の衝撃を和らげ、浸透速度を緩和することは、

土壌侵食の原因となる土粒子の飛散を防ぎ、肥料成分の流亡防止にも役立つ。そこで、以下の具体策について検討を行った。

### 3-1 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

心土破碎が表面流出の抑制や土壌の保水性に及ぼす長期的な効果について検討するとともに、土壌の特性、とくに土壌有機物が侵食の受けやすさ（受食性）に及ぼす影響について検討した。また、未利用資源である竹チップを用いた土壌被覆（マルチ）に着目し、土壌水分や温度環境の変動の抑制と土壌侵食防止に対する効果について検討した。さらに、土壌微生物のコロニー（BSC ; Biological Soil Crust）を利用した土壌流亡の抑制について、土壌の種類や水分状態等の条件を変化させて BSC の初期生育特性について検証した。

### 3-2 作物の根系発達農法の検討

昨年度に引き続き、より深く、より多く根が分布するソルガム圃場における土壌環境調査を継続し、短時間強雨や連続干天に対応した適切な土壌管理の在り方について検討した。

## 7. 研究成果

### 項目 1. 降雨強度と連続干天のリスク判定

#### 1-1 降雨強度と連続干天のリスク判定手法の拡張

本研究の初年度に、黒ボク土を対象に開発した、誘電土壌水分センサを組み合わせることによる湛水発生観測システムの適用範囲を拡張するため、初年度とは異なる土壌である褐色低地土を対象に観測システムの検証を行った。その結果、観測システムによって判定される湛水は、目視による観察とよく一致し、さらに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（図 1、図 2）。このことから、本研究で開発・検証した湛水観測システムと湛水発生モデルはともに、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。（鈴木・真田・篠原）

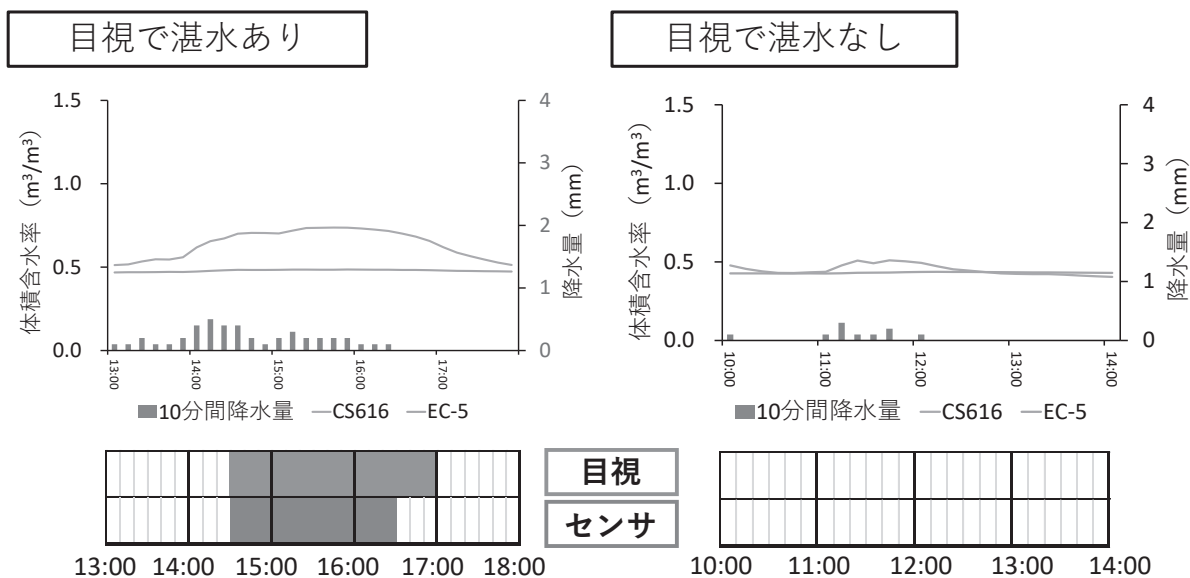


図 1 センサによる土壌面湛水の観測（目視との比較）

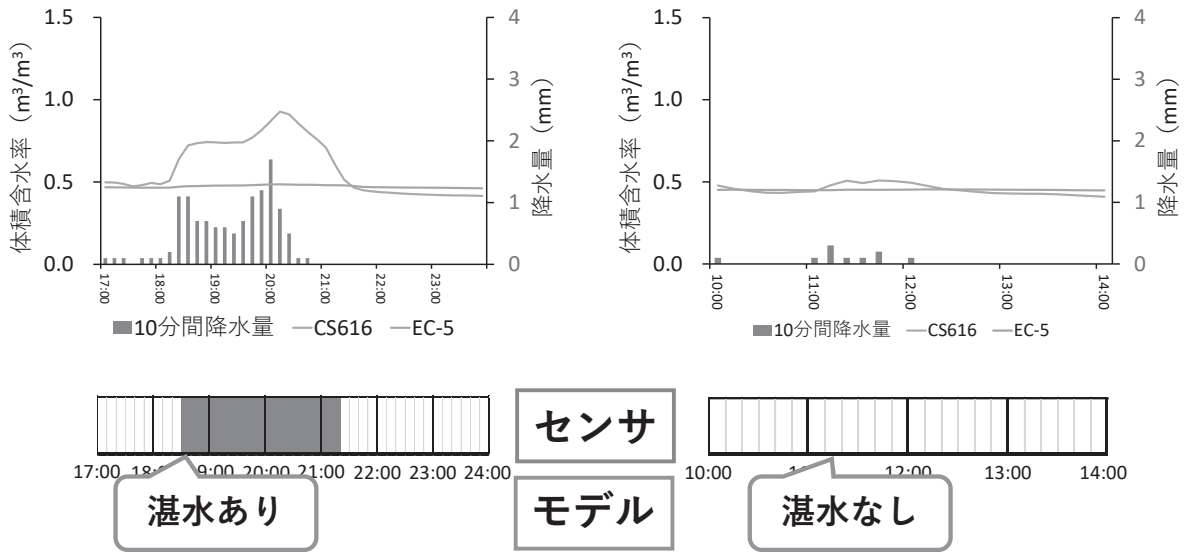


図2 センサによる土壌面湛水の観測（モデルとの比較）

### 1-2 連続干天のリスク判定手法の確立

世田谷キャンパス内のライシメーターを用いて、ダイズの栽培試験を野外の自然な条件（天水）で行い、ダイズの生育や土壌水分の連続観測とともに、収量や根系の分布についての調査を行った。その結果、根が表層に集中して分布する場合は表層のみの土壌水分を利用するため、表層の乾燥によって頻繁に水ストレスを受けやすく、収量が減少する傾向が認められた。さらにこのように根が表層に集中して分布する場合、生育に支障をきたす連続した無降雨日（連続干天日）の発生回数は、過去46年間で微増している傾向が認められた。一方で根が深くまで発達する場合は、無降雨が表層に根が集中する場合以上に長く続く場合でも水ストレスを受けにくく、収量は減少しなかった。根が深くまで発達する場合において生育に支障をきたす連続した無降雨日（連続干天日）の発生回数は、過去46年間でほとんど変化していなかった（図3）。（鈴木・山崎・藤川）

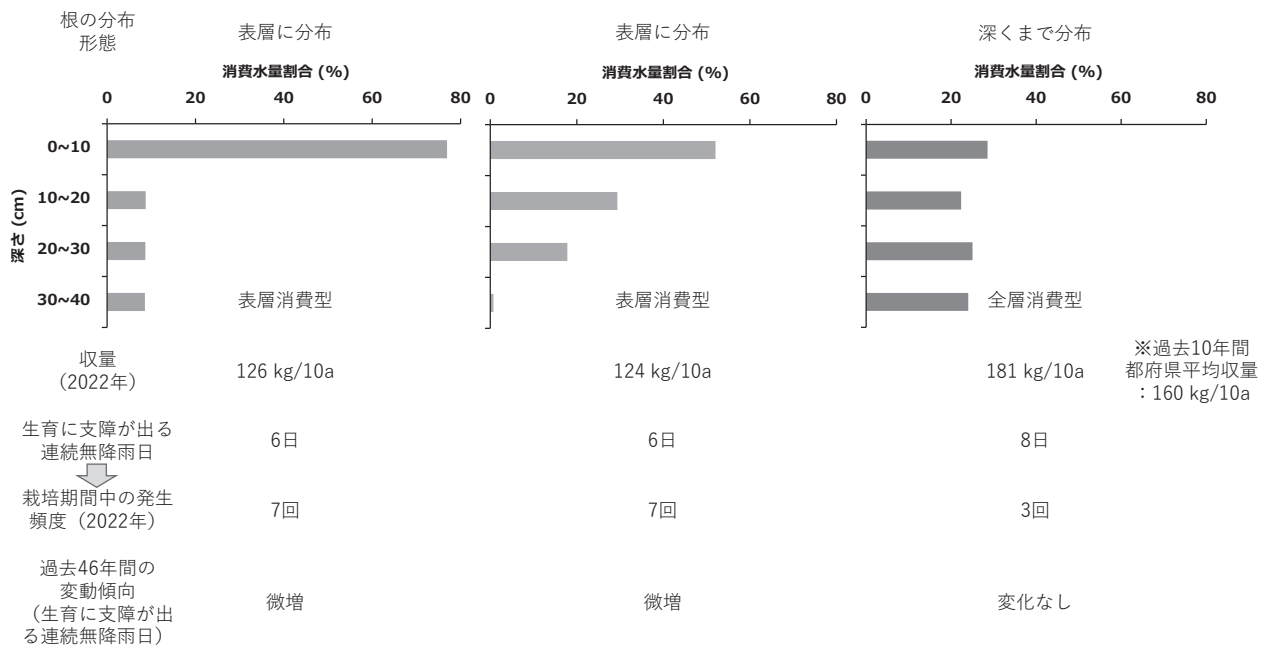


図3 ダイズ栽培における根系の発達形態と収量および水ストレスとの関係



## 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

本研究では、福島県三島町を対象に、気候変動シナリオ下での積雪・融雪量の減少を解析し、森林破壊と災害リスクの因果関係を小流域レベルで明らかにした（図 4）。シミュレーションには SWAT+を用いた。三島町の SWAT+のモデルは、以前の我々の研究（Kikuchi et al., 2022）で構築され、パラメータの補正とオートキャリブレーションを用いて NSE と RMSE からその再現性が確認されたものである。気候変動シナリオのシミュレーションには、IPCC（気候変動に関する政府間パネル）の第 6 次影響評価報告書でも使用されている CMIP6（Coupled Model Intercomparison Project 6th）の最新モデル群と国立環境研究所気候変動適応センターが開発した日本国内の統計的ダウンスケール・シナリオ（NIES2020）を適応した（表 1）。排出シナリオは、将来の気候変動に関する議論で用いられている RCP8.5（地球温暖化対策なしに温室効果ガスが増加し続けるという仮定）をベースに、21 世紀末の状況をシミュレーションした。シミュレーションの結果、RCP8.5 シナリオでは、降雪・融雪が大幅に減少し、1 月から 3 月までの RCP8.5 の降雪は 1 日のみとなった（表 2）。21 世紀末の RCP8.5 の春先の融雪水の利用可能性は、非常に低いことが示された。さらに、森林破壊のシミュレーションを行った。森林破壊により森林面積の 5%が農地となることを想定した。森林破壊シミュレーションの結果、Deforestation の地表流量は 145.1mm となり、元の地表流量（135.1mm）より 7%増加した。豪雨や長雨では、2 つのケースで貯水機能に差は見られなかったが、5%の森林伐採では、降雨の始まりに河川流量が増加することが示された（図 5、表 3）。（岡澤）

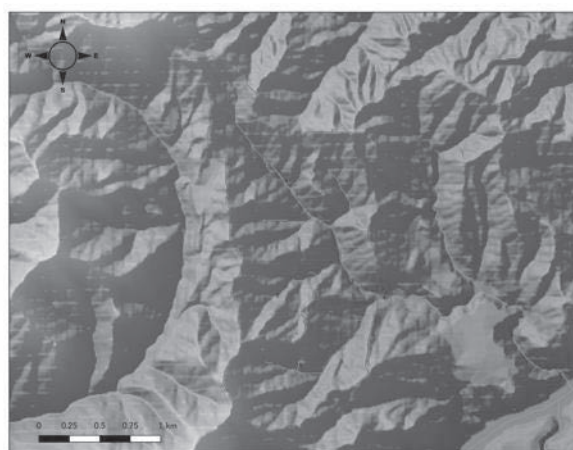


図 4 福島県三島町梯子沢流域（28.5km<sup>2</sup>）

表 1 モデル構築データ一覧

項目	データ元	備考
標高データ	国土地理院 基盤地図情報	10mラスターデータ
土地利用分布	JAXA (EORC) AVNIR-2高解像度 土地利用土地被覆図	10mメッシュ<土地利用：12分類> (解析では、森林、農地、草地に区分)
土壌分布	20万分の1土地分類 基本調査（農研機構）	シェープファイル（ポリゴン）
土質	現地調査データ (2021/12/17)	含水率、EC、pH、強熱減量、真比重、透水係数、 粒度分布
気象データ	国立環境研究所 【東農大との共同研究】	日データ：風速、風向、気温、相対湿度、日射量、 降水量、日照時間、積雪深度、クオリティ値 5分間 隔データ：流量、SS

表2 気温上昇 (+0.5~+2.0) による融雪の影響

	初期値	+2.0	+1.0	+0.5
3月流量	0.050 m3/s	0.045 m3/s(-10%)	0.048 m3/s(-4%)	0.048 m3/s(-4%)
3月融雪量	7.81 mm	2.82 mm(-63%)	8.52 mm(+9%)	6.50 mm(-17%)
消雪日	4/11	3/17(-25)	3/31(-11)	3/31(-11)
積雪日数 (1-3月)	18日	5日(-13)	9日(-9)	14日 (-4)
降雪量 (1-3月)	78.80 mm	14.54 mm(-82%)	21.60 mm(-73%)	62.31 mm(-21%)
最大積雪深	20.5mm	5.37mm(-74%)	5.42mm(-74%)	12.3mm(-40%)

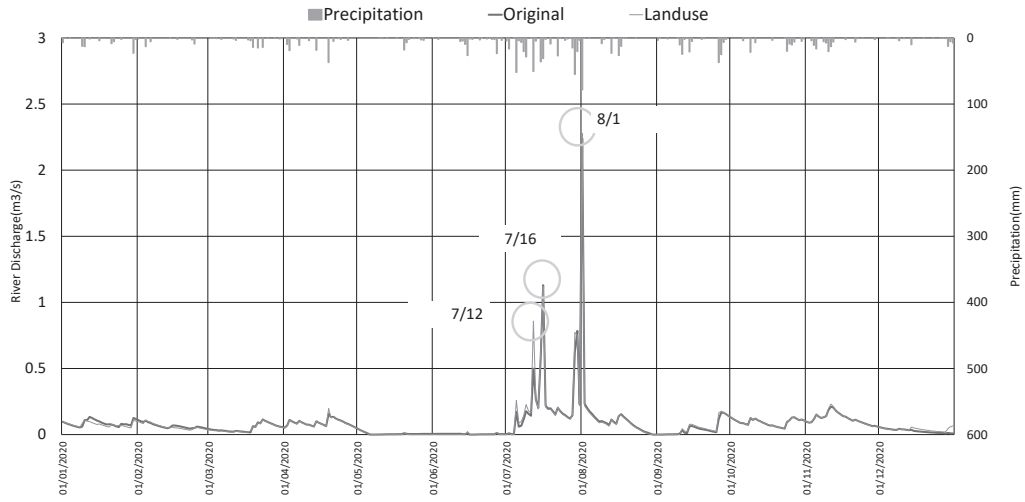


図5 森林破壊後の日流量

表3 農地増設による水収支の変化

単位：mm	初期値	農地増設30%
蒸発散 (ET)	394.7	395.9(+0.3%)
表面流出	135.1	163.8(+21%)
還元流 (リターンフロー)	92.5	1.1(-99%)
深帯水層の移流量	18.2	18.2(0%)

## 2-2 リスクとなる降雨強度と連続干天の長期変動傾向の解明

作物の生育に支障をきたす連続した無降雨日の発生頻度について、今年度に得られた最新の情報（項目 1-1）の結果をもとに、気象庁のアメダスデータ（世田谷）を利用して 1976～2021 年までの 46 年間の長期変動傾向を解析したところ、上記 1-1 により明らかになった、6 日以上連続無降雨日（ダイズの生育に支障をきたす連続干天）の頻度は、弱い増加の傾向にあることが明らかとなった（図 6）。一方で 1-1 で示したように、連続干天のリスクは根系の深さ方向への発達でリスクが軽減されることが示唆された（図 6）。（鈴木）

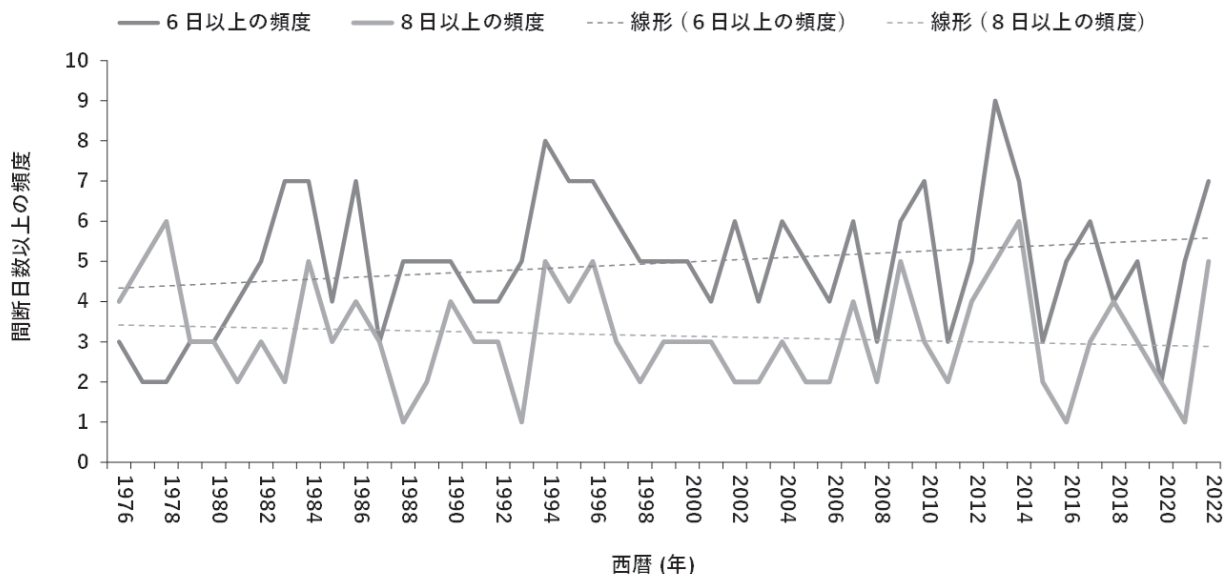


図 6 ダイズの生育に支障をきたす連続無降雨日（6 日および 8 日以上）の発生頻度の推移

## 項目 3. リスク軽減農法の開発

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

#### 3-1-1 心土破碎の効果検証

横浜市都筑区の畑圃場において、数年にわたって作付けを行っていない比較的平坦な 250 m<sup>2</sup> の圃場（A 圃場、勾配 5°～7°程度）を 2 分し、2020 年 8 月 5 日および 2021 年 10 月 29 日に 2 分した区画の一方で心土破碎を行い、他方を対照区として、誘電土壌水分センサ（TEROS21、METER）を水平に埋設し、データロガー（ZL6、METER）に接続して体積含水率とマトリックポテンシャルの観測を継続して行った（図 7）。また、転倒升式雨量計（ECRN-100、METER）によって雨量を測定した。さらに、農地の傾斜の下の部分に集水柵を設置し、その中に圧力センサ（U20-001-04、Onset）を入れ、表面流出によって流れ出た水位を計測した。また心土破碎の効果の持続性を調べるため、それぞれの区画の同一の 3 か所において、地表面から深さ 90 cm までの土壌硬度（貫入抵抗）を継時的に調べた。

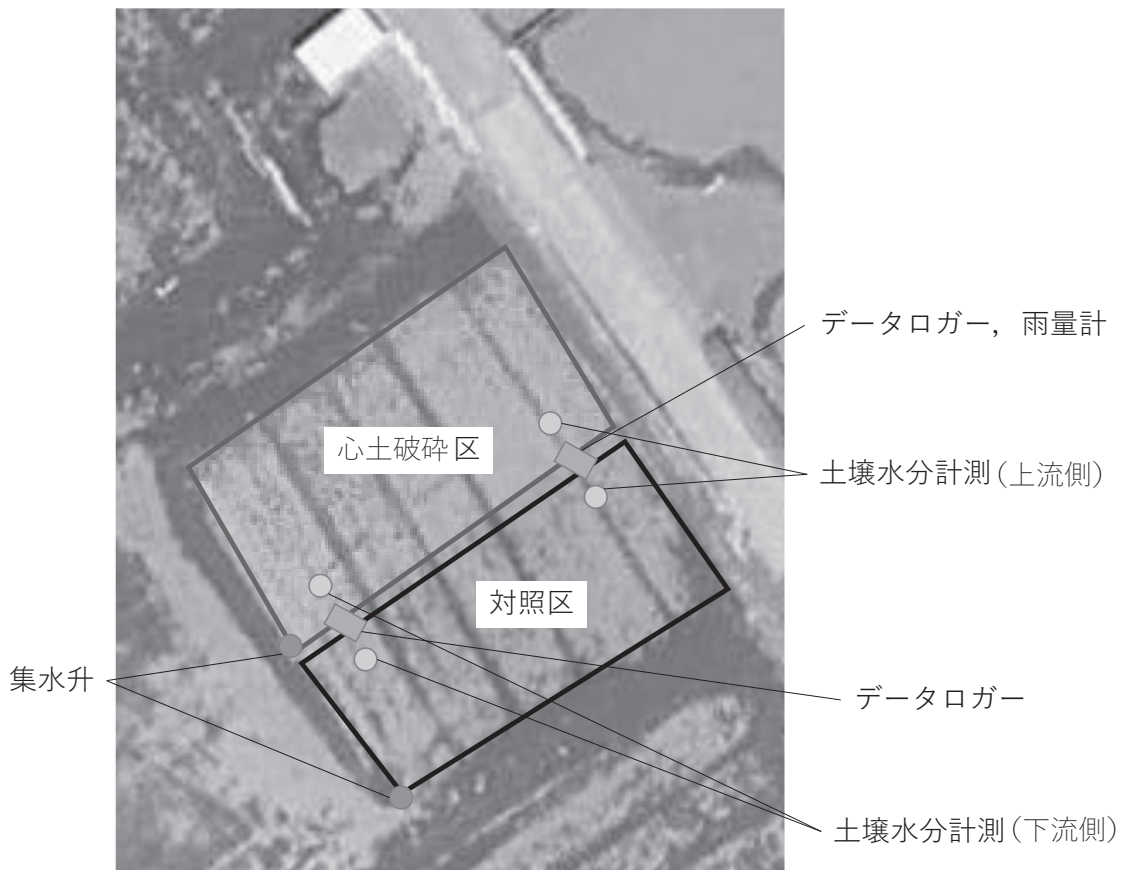


図7 心土破碎（プラソイラ）施工区における観測機材設置箇所  
（横浜市都筑区折本町A圃場、2021年12月3日～）

その結果、前年同様に対照区でのみ表面流出が複数回発生した。心土破碎区での表面流出は1度も観測されなかった（図8、9）。

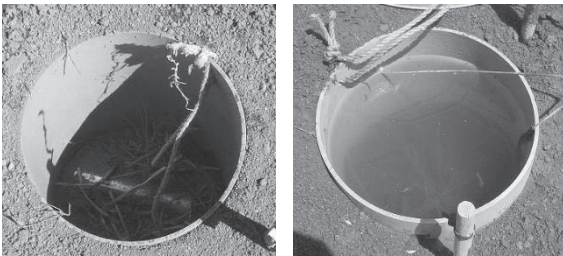


図8 降雨後の集水枡（横浜市都筑区折本町A圃場、左：心土破碎区、右：対照区）

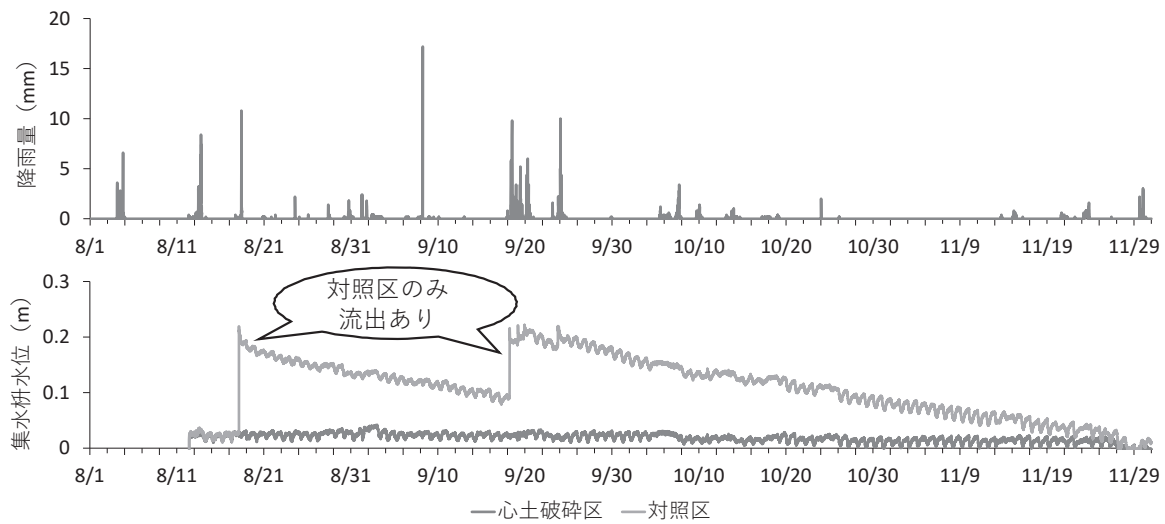


図9 表面流出の比較（横浜市都筑区折本町A圃場）

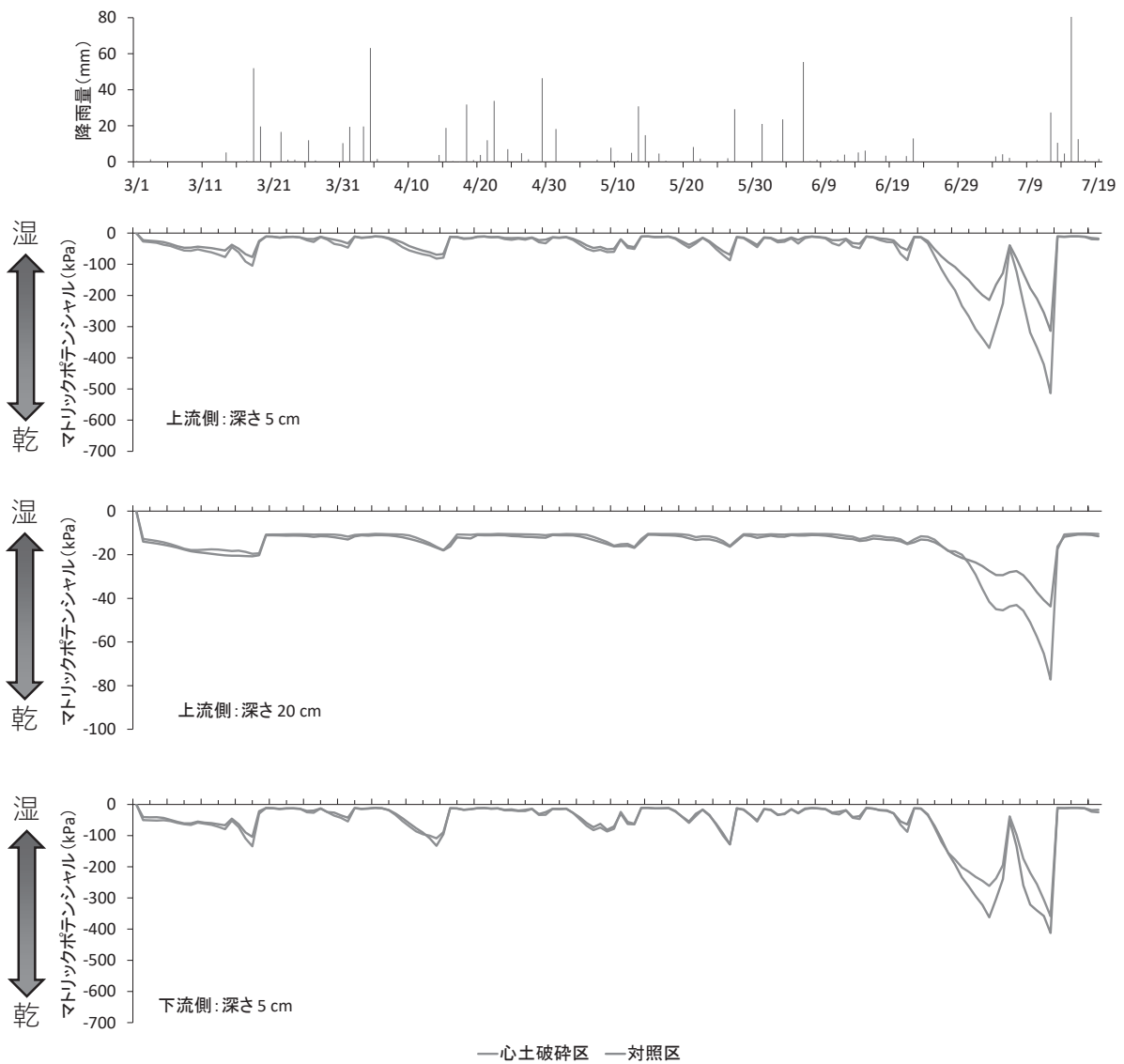


図10 マトリックポテンシャルの比較（横浜市都筑区折本町A圃場）

観測期間中、心土破碎区と対照区ではマトリックポテンシャルの変動にほとんど差がなく、ほとんど

の期間において作物の生育に最適である生長阻害水分点以上のマトリックポテンシャル (>-100 kPa) を維持していた (図10)。ただし、夏の期間に無降雨日が5日間以上続いた際、深さ5 cmではマトリックポテンシャルが生長阻害水分点 (-100 kPa) を下回るほど乾燥した。その際、上流側では心土破砕区のマトリックポテンシャルの値が対照区に比べて小さくなった一方で、下流側では対照区のマトリックポテンシャルの方が対照区に比べて小さくなった (図10)。心土破砕区では、降雨後の土壌への雨水の速やかな浸透によって、下流側で湿潤な状態が維持されていたことが示唆される。

土壌硬度 (貫入抵抗値) の経年変化を見ると、2020年8月の心土破砕 (プラソイラ) 施工以降、現在に至るまで軟らかい状態が維持されていた (図11)。2021年12月には、深さ30 cmより浅い部分において心土破砕区と対照区の土壌硬度の差がほとんどなくなっていたが、これはロータリー耕を前面に施したことによるものと考えられる (図11)。2023年2月に対照区の深さ20 cmにおいて土壌硬度が高くなっていたのは、ロータリー耕の効果が消失してきていることの表れであると考えられる (図11)。

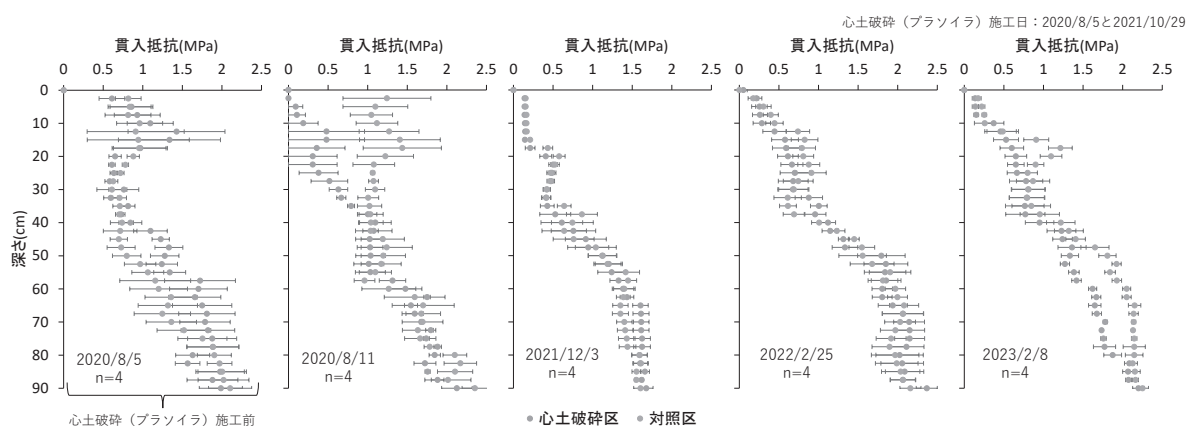


図11 土壌硬度 (貫入抵抗値) の経時変化 (横浜市都筑区折本町A圃場)

同地区において、2020年8月5日および2021年10月29日にプラソイラによる心土破砕を行った2つ目の圃場 (B圃場、面積265 m<sup>2</sup>) の土壌硬度 (貫入抵抗値) を測定し、効果の経年変化について検討した (図12、図13)。この圃場はもともと15°~20°程度の傾斜畑であったが、2020年に切土/盛土が行われたことによって勾配が2°~3°程度となっている。

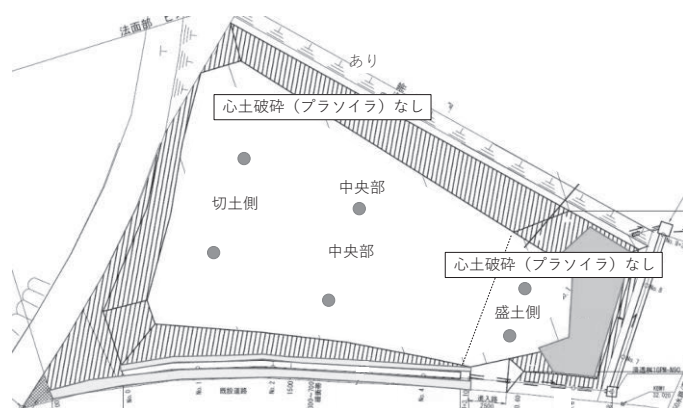


図12 傾斜改善畑における土壌硬度 (貫入抵抗) 測定位置 (横浜市都筑区折本町B圃場)

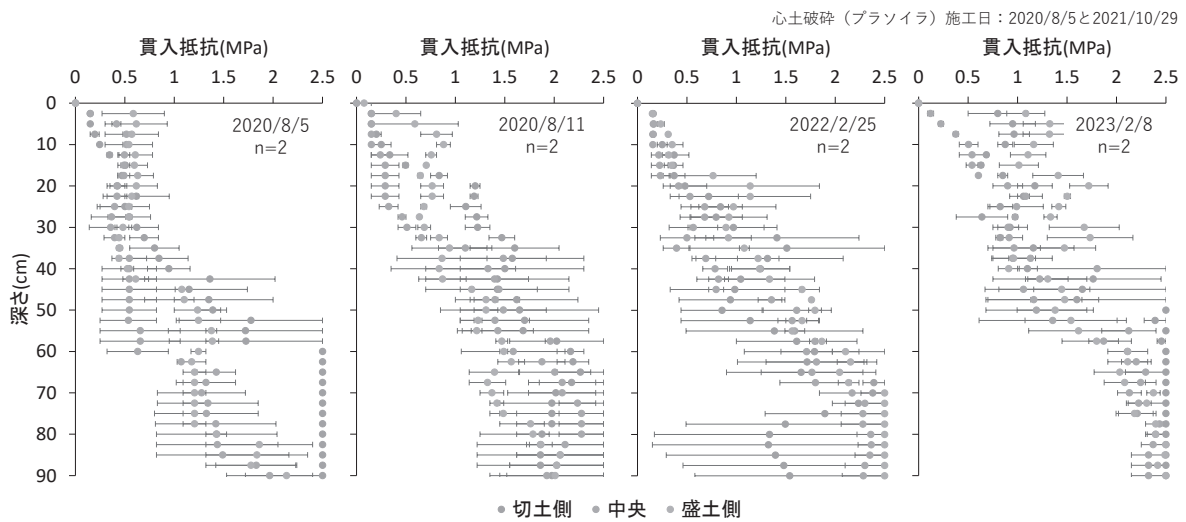


図13 土壌硬度（貫入抵抗）測定結果（横浜市都筑区折本町B圃場）

圃場の中央部において、地表面から深さ60 cmまでは低い土壌硬度（貫入抵抗値）が維持されており、プラソイラによる心土破砕の効果が持続しているものと判断される。ただし測定箇所による土壌硬度のばらつきが非常に大きく、深さ50 cm以深では貫入抵抗値が作物根の伸長の阻害になるといわれている2 MPaを超える場合が多い。これは、傾斜改善の際の盛土の作業や地山の影響によるものと考えられる。また、深さ30 cmよりも浅い部分では、経年的に土壌硬度（貫入抵抗値）が少しずつ増加していく傾向がみられた。ただしこの圃場において、高い土壌硬度は雨水の浸透を阻害するほどではなかった（図13）。

さらに、同地区で2019年8月6日にプラソイラによる心土破砕を行った3つ目の圃場（C圃場）において土壌硬度（貫入抵抗値）を測定し、効果の経年変化について検討した（図12、図13）。C圃場は面積が770 m<sup>2</sup>、勾配が2°～4°程度であり、A圃場と同様に圃場を2分し、一方で心土破砕を行い、他方を対照区としたものである。心土破砕区では、心土破砕を行った2年半経過後でも対照区よりも低い土壌硬度（貫入抵抗値）を維持されていることが示された（図14）。（鈴木）

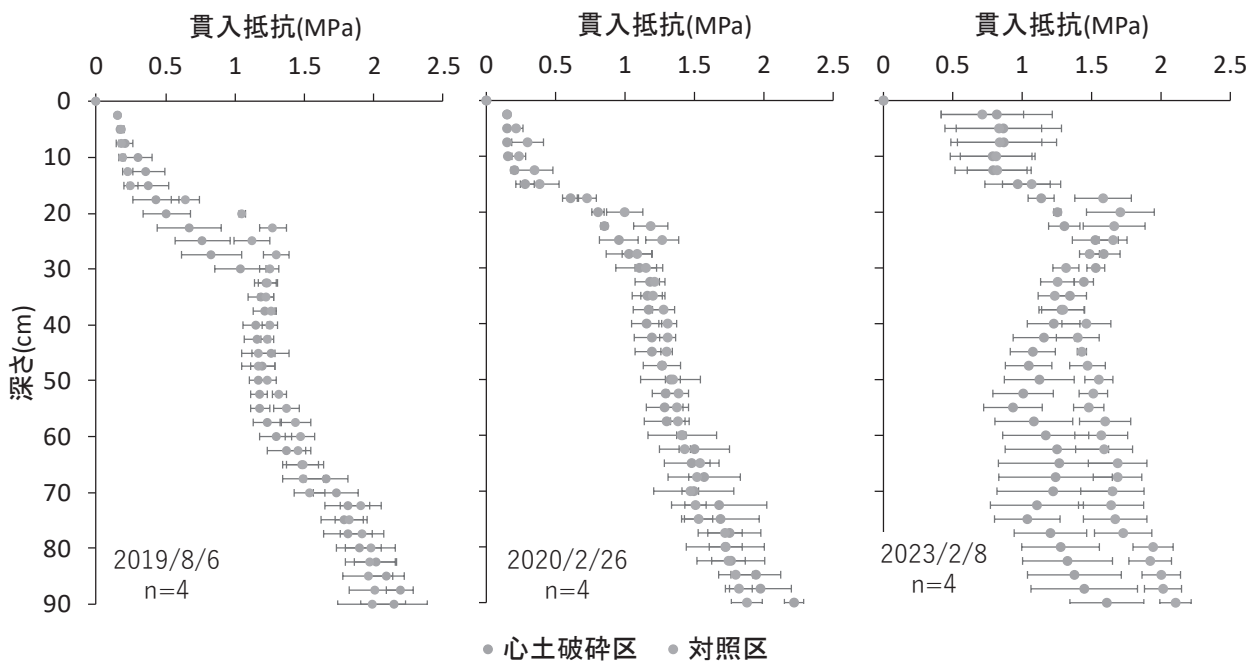


図14 土壌硬度（貫入抵抗値）の経時変化（横浜市都筑区折本町C圃場）

### 3-1-2 土壤有機物が受食性に及ぼす効果の検討

いくつかの土壤試料の強熱減量と分散率を測定し、その関係について検討した。なお、強熱減量は土壤の有機物含有量の多寡の指標となり、分散率は、降雨による土壤の侵食の受けやすさを表す指標である。検討の結果、強熱原料（有機物含有量）と分散率は有意な負の相関を示し、降雨パターンの変化に伴う土壤侵食のリスク軽減の手段として、有機肥料の積極的な施用の効果が明らかになった（図 15）。

（鈴木、渡邊、真田）

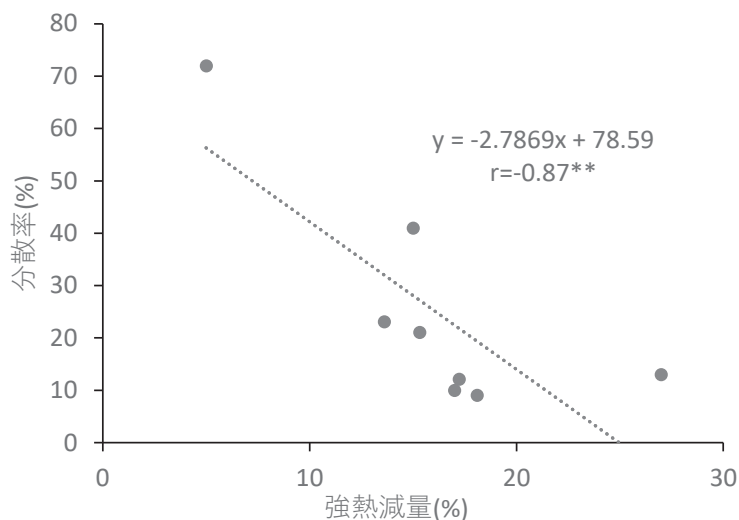


図 15 強熱減量と分散率の比較

### 3-1-3 竹チップを用いた土壤被覆（マルチ）による土壤水分や土壤炭素含有量に対する効果の検証

土壤侵食を防ぎ、土壤水分や温度環境の変動を抑制する土壤被覆（マルチ）に注目した。未利用資源である竹のチップを用いたマルチをおこない（図 16）、マルチ内およびマルチ直下の土壤表面の温度を計測した結果（図 17）、9月に竹チップを敷いた直後には10 cm厚さのマルチで約5℃、30 cm厚さで約10℃、60 cmの厚さで約30℃の温度上昇がみられ、竹チップの発酵による発酵熱の影響が確認された。地表面温度低下の抑制効果は3ヶ月以上維持され、日最低気温は竹チップを10 cm厚さに敷いた区で裸地状態の区に比べて5℃前後高く、地表面温度が10℃以下になる日が1ヶ月以上遅くなった。また、12月から2月に掛けて気温が氷点下に下がったが、10 cm程度のマルチでもマルチ内部は4℃以下になることはなかった（図 18）。また、マルチに用いた竹チップの炭素含有率を測定したところ、マルチ利用後4ヶ月程度で炭素含有率が9.4%から14%と約1.5倍になった。一方、C/N比は同様に4ヶ月までは減少しており、竹チップの分解や乾燥の過程においては水分や炭素以外の物質の放出が炭素の放



図 16 原料の竹と竹チップ

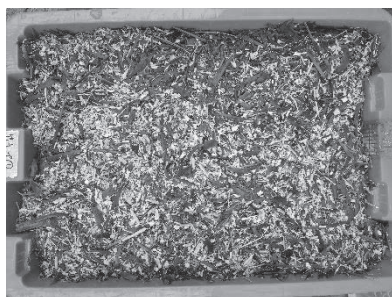


図 17 測定現場



出より速いため、相対的に炭素含有率が増加したと考えられた (図 19)。(藤川)

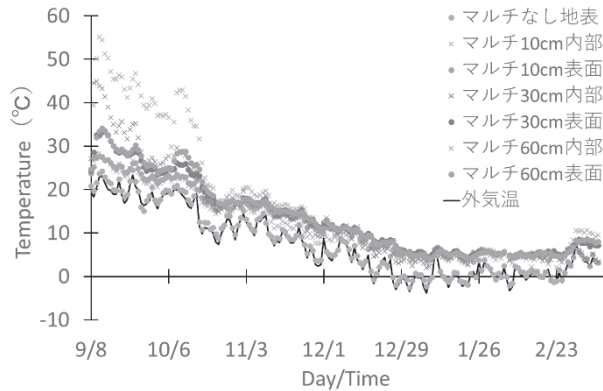


図 18 マルチ材による日最低気温の変化

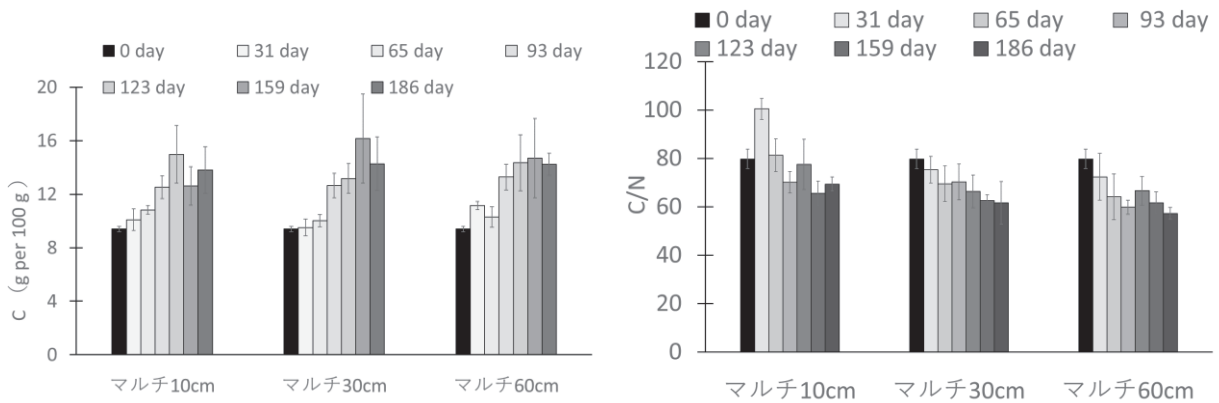


図 19 マルチ中心の竹チップの炭素含有率 (左) と C/N 比 (右)

### 3-1-4 土壌の種類や水分状態による BSC (Biological Soil Crust) の初期生育特性についての検証

5つの水分条件と土性の違いが、BSCの繁茂にどのように影響するか検証した。1/10000a ワグネルポットに園芸用土の黒土(壤土)と赤土(壤質砂土)を乾燥密度がそれぞれ0.64、0.49 g/cm<sup>3</sup>となるように充てんし、水分条件をpF値でそれぞれ1.8、2.0、2.4、3.0、3.27としたうえでBSCの繁茂を開始した(図20)。BSCの繁茂の様子を目視で確認するとともに、ポット表面を定期的にNDVIカメラにて撮影してBSCの可視化を行った。その結果、黒土・赤土ともに水分条件pF1.8のポットにBSCの繁茂が確認され、水分量が多いほどBSCが繁茂することが分かった(図21)。また黒土は赤土と違い、水分条件pF2.0のポットでもBSCの繁茂が確認された。さらに黒土では、毛管飽和での水分供給により例外的に黒土での繁茂が確認された可能性があることが分かった。(渡邊)。

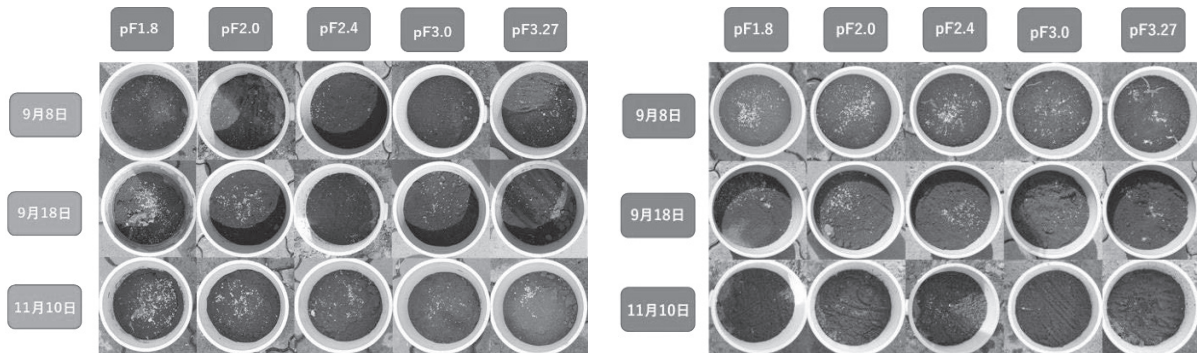


図 20 BSC の繁茂状況 (左：黒土、右：赤土)

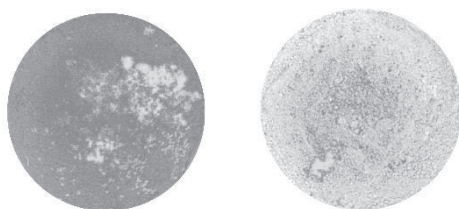


図 21 NDVI により可視化された BSC の繁茂状況（左：黒土、右：赤土、水分状態はともに pF1.8）

### 3-2 作物の根系発達農法の検討

2022 年度は北海道千歳市にて、カネコ種苗株式会社が栽培しているソルガムの「ソルガムターザン」、デントコーンの「KD460 (DKC4444)」およびソルガムの「他品種 A」の根長密度を深さ 90cm まで調査した（図 22）。それらの結果から根の重心である RDI 値を計算し、RDI 値は品種間で有意に異なることが分かった（表 4）。すなわち、「ソルガムターザン」の根系が深いのに対し、「他品種 A」の根系が浅く、「KD460 (DKC4444)」の根系が両者の中間となった。（伊藤）

表 4 北海道千歳市におけるソルガムとデントコーン品種の RDI 値

品種	RDI
ソルガムターザン	23.1 a
KD460 (DKC4444)	20.4 ab
他品種 A	16.9 b
分散分析	※※

注) 同じアルファベットには有意な差がないことを示す (Turkey)。

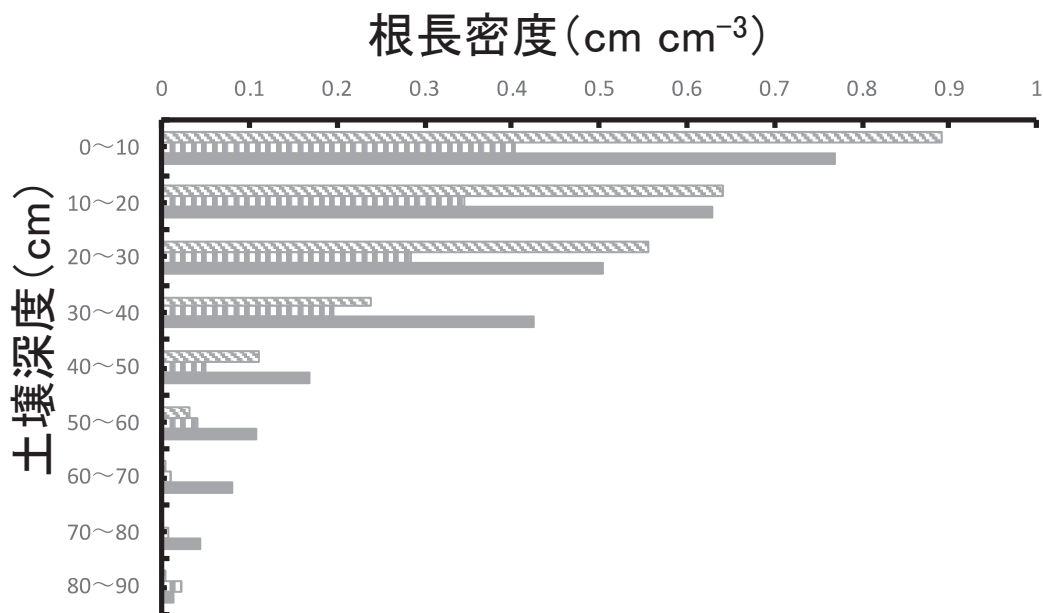


図 22 北海道千歳市におけるソルガムとデントコーン品種の根長密度

### その他

本研究のセミナーの公表し、意見やアイデアを交換する場として、2022 年 9 月 21 日に本学世田

谷キャンパスにてセミナーを開催し、本プロジェクトのメンバーのうち3名が研究成果を発表した。また英国クランフィールド大学の講師で、農業環境の研究者である Robert Simmons 博士にも講演を依頼し、博士の研究内容について発表していただくとともに、気候変動が農業に及ぼす影響やそれを回避する方法等について議論した (図 23)。

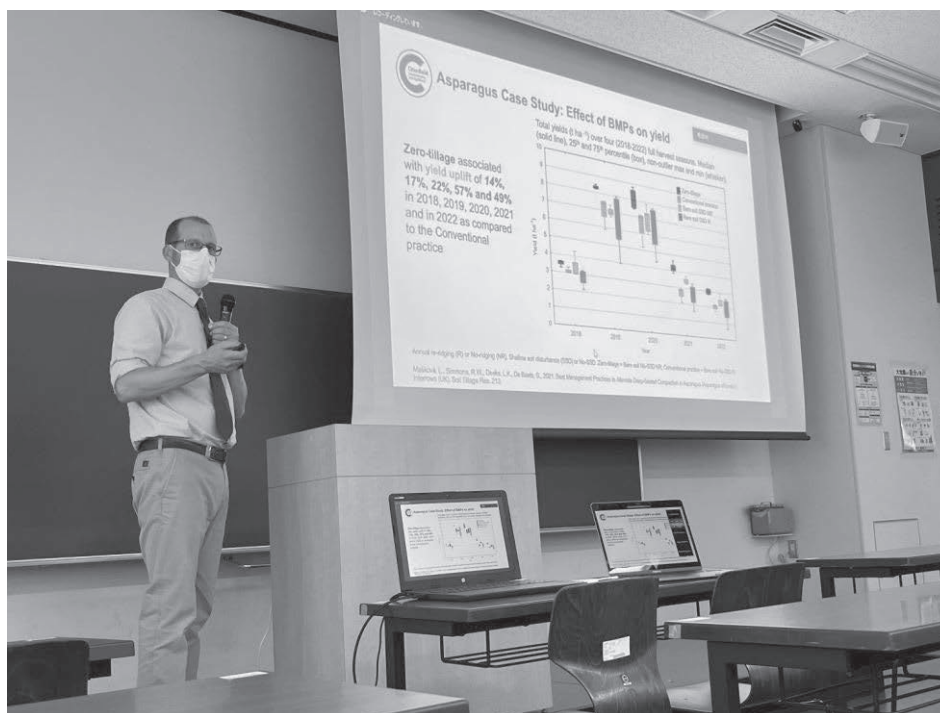


図 23 Robert Simmons 博士 (英国クランフィールド大学)

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

他の研究への応用はまだないが、以下の成果が直ちに実用可能である。

- ・ 畑地で起こる表面流去やそれに続く土壌侵食の引き金となる湛水の発生を観測によって明らかにするシステムが構築され、モデルと組み合わせることにより、湛水を発生させる降雨強度の特定が可能となった。連続干天に伴う作物収量へのリスク判定手法も確立された。
- ・ 湛水を発生させる降雨強度や作物生育の支障をきたす連続干天の発生回数の長期変動傾向を明らかにする手法が示された。
- ・ 短時間強雨に起因する農地へのダメージや、連続干天によって生じる農作物へのダメージを軽減する手法が開発された。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

上記8. に記した様々な技術や適応策多くの農業現場適用が望まれる。

## 10. 公表した成果一覧

### 著書

- 1) 鈴木伸治 (2022) : 沙漠緑化における農業・環境・エネルギー、グローバルに未来を志向するー地球の植・農・環境とエネルギー、東京農業大学総合研究所グローバル情報研究部会編、東京農大出版会、40-58.

- 2) 藤川智紀・川名 太・江上親宏・中村好男 (2022) : 生活基盤整備から見た農業と環境のこれから、グローバルに未来を志向するー地球の植・農・環境とエネルギーー、東京農業大学総合研究所グローバル情報研究会編、東京農大出版会、71-81.

#### 学術論文

- 1) Okiria, E.; Okazawa, H.; Noda, K.; Kobayashi, Y.; Suzuki, S.; Yamazaki, Y. A Comparative Evaluation of Lumped and Semi-Distributed Conceptual Hydrological Models: Does Model Complexity Enhance Hydrograph Prediction? *Hydrology* 2022, 9, 89. doi: 10.3390/hydrology9050089
- 2) Zhang, K.; Okazawa, H.; Hayashi, K.; Hayashi, T.; Fiwa, L.; Maskey, S. Optimization of Ground Control Point Distribution for Unmanned Aerial Vehicle Photogrammetry for Inaccessible Fields. *Sustainability* 2022, 14, 9505. doi: 10.3390/su14159505
- 3) Zhang, K.; Maskey, S.; Okazawa, H.; Hayashi, K.; Hayashi, T.; Sekiyama, A.; Shimada, S.; Fiwa, L. Assessment of Three Automated Identification Methods for Ground Object Based on UAV Imagery. *Sustainability* 2022, 14, 14603. doi: 10.3390/su142114603
- 4) Dickson Mazibuko; Hiromu Okazawa; Hiroko Gono; Sarvesh Maskey. The status of vegetables research in Malawi; Capacity, progress, gaps, and way forward-A scoping review. *Agricultural Sciences* 2023, inpress.
- 5) Xiaoxun Huang; Kiichiro Hayashi; Minoru Fujii; Ferdinando Villa; Yuri Yamazaki; Hiromu Okazawa. Identification of potential locations for small hydropower plant based on resources time footprint: A case study in Dan River Basin, China. *Renewable Energy* 2023, 205, 293-304.  
Doi: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2023.01.079>
- 6) Shotaro Kikuchi; Hiromu Okazawa; Sarvesh Maskey; Sergio Azael May Cuevas; Makoto Oba; Shogo Nakamura; Seiji Hayashi. Estimation of Long-term River Discharge in Forested Watershed in snowy region by SWAT. *International Journal of Environment and Rural Development*. 2022 13 inpress.

#### その他（学会発表等）等

- 1) Suzuki, S. (2022): Evaluation of the effects of changes in rainfall distribution pattern in Japan associated with climate change and its possible adaption. Short seminar - Consideration of agronomic adaptation options to environmental risk, depletion of resources and climate change -. Tokyo University of Agriculture, Setagaya Campus, September, 21, 2022
- 2) Simmons, R. (2022): Studies on sustainable soil management, food safety and enhancement of crop productivity. Short seminar - Consideration of agronomic adaptation options to environmental risk, depletion of resources and climate change -. Tokyo University of Agriculture, Setagaya Campus, September, 21, 2022
- 3) Sanada, A. (2022): Studies on sustainable soil management, food safety and enhancement of crop productivity. Short seminar - Consideration of agronomic adaptation options to environmental risk, depletion of resources and climate change -. Tokyo University of Agriculture, Setagaya Campus, September, 21, 2022
- 4) Shinohara, T. (2022): Climate change and seed quality- how do you select and produce vigourouse seed? Short seminar - Consideration of agronomic adaptation options to environmental risk, depletion of resources and climate change -. Tokyo University of Agriculture, Setagaya Campus, September, 21, 2022
- 5) 西村彩花・渡邊文雄・鈴木伸治・松本壮平 (2023) : BSC 緑化工法における施工初期の生育と土壌侵食抑制. 日本沙漠学会 2023 年第 34 回学術大会講演要旨集、60-61. 2023 年 5 月 27 日～5 月 28 日、宮崎大学およびホテルメリージュ

# 2022年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 庫本 高志

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)	予算額(円)
新たな肉用牛「無角黒毛」の創出—生産性とアニマルウェルフェアの向上を目指して—	産業と技術革新 の基盤をつくら う	3,700,000

## 2. 研究組織

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

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

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

## 5. 研究目的

2022年度は、黒毛と無角のF1を無事出産させ、育成することを目的とする。また、複数のF1産子を得るために、富士農場および富士農場近隣の酪農家において追加の移植を実施する。

胚の遺伝子診断については、受精卵の培養上清中に漏れ出したDNAテンプレートとして用いる。これにより、受精卵に損傷を与えることなく遺伝子診断を行う。

黒毛和種と無角和種のゲノム多型情報の収集については、次世代シーケンサーで得られた情報をもとに多型情報を収集・整理し、SNPマーカーとして開発する。

## 6. 研究（実験）方法

(1) F1産子の作出

2021 年度に（黒毛×無角）F1 胚を移植した雌のホルスタインを富士農場にて飼育管理した。分娩予定日は 2022 年 10 月 16 日であった。分娩予定日 1 ヶ月前には分娩時の管理の効率化のため、分娩房へ移動させた。分娩予定日の 2 日前から研究室学生が富士農場にて、分娩兆候の確認を行った。分娩兆候か確認できれば、分娩房にて正常に分娩が行われるかを観察した。

## （2）遺伝子診断法の確立

### 体外受精卵の作製

無角遺伝子を持つ精液（イクウタ）と黒毛和種の卵巣卵子、黒毛和種の精液（コテルシゲ）を黒毛和種の卵巣卵子を用いて体外胚を作成した。受精卵の作成方法は既報に従った Mol Cell Endocrinol. 2022 Jul 1;551:111651.受精後 48 時間で 8 細胞期に分割した胚を選び、透明帯をマニピュレーターを用いて切開し 10  $\mu$ L の培養液に 1 つずつ移して 5 日間、胚盤胞期胚まで培養した。透明体から一部がはみ出している胚盤胞期胚への発育を確認後、培養液を遠心して細胞や割球を除去し、上澄みを DNA 抽出液と等量混合して DNA を抽出した。抽出液は無角遺伝子の有無を確認するため PCR に供した。

## （3）多型情報の収集

### ゲノムシーケンス

無角遺伝子を持つ精液（イクウタ）と黒毛和種の精液（サクラカゲフジ）から DNA を抽出した。抽出は精子を DTT 処理しその後プロティナース K を加えて、DNA を溶出させ、その後常法により DNA を抽出した。

ゲノム解析センターにて、ゲノムシーケンスを行い、得られたリードをウシのレファレンス配列 (ensemble ARS-UCD1.2) にマッピングした。

## 7. 研究成果

### （1）F1 産子の作出

予定日の 2022 年 10 月 16 日までに分娩兆候は確認できなかった。10 月 20 日の深夜に分娩兆候が確認された。一次破水、二次破水は順調に観察されたが、二次破水後 1 時間経過しても娩出されなかった。体と仔牛に危険な状態になる可能性が高まった。そこで、ロープと産科ハンドルを用いて、F1 産子の娩出を介助した。

F1 産子は 41kg の雄であり、「庫之助」と命名された。出生時点で、「庫之助」の角は、目視、触診ともに確認できなかった。また、生後 1 週間後に目視と触診を行った際にも、角は確認できなかった（図 1）。

「庫之助」の毛根から DNA を抽出し遺伝子診断を行ったところ、無角遺伝子をヘテロに保有していることが確認できた（図 1）。無角遺伝子は顕性であるためヘテロ個体も無角の表現型をもつ。以上のことから、「庫之助」は無角遺伝子をヘテロにもち、無角であることが明らかとなった。

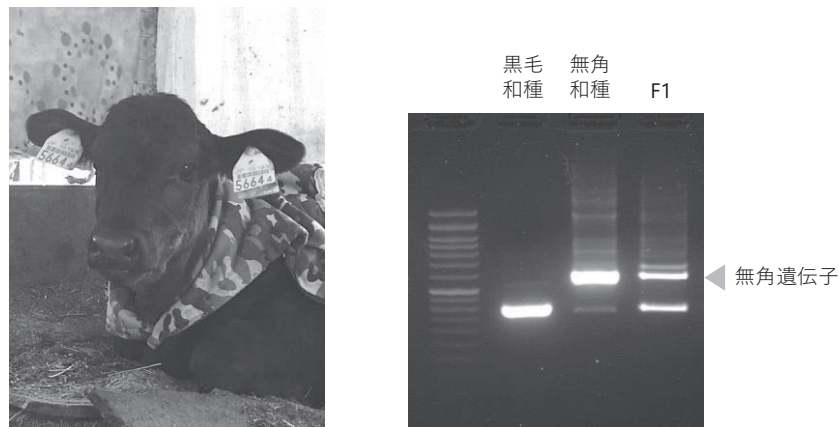


図1 (黒毛×無角) F1 の表現型 (左) と遺伝子診断の結果 (右)

## (2) 遺伝子診断法の確立

F1は無角遺伝子をヘテロに持つ。無角黒毛を作製するには、F1に黒毛をかけて戻し交雑子を作製する必要がある。しかし、無角遺伝子を持つN2が得られる確率は50%であるため、産まれてくる戻し交雑子(N2)は必ずしも無角遺伝子を持つとは限らない。そこで、遺伝子診断によって、あらかじめ無角遺伝子を持つ個体が選別できないか検討した。幸い、N2産子は体外受精胚の移植によって作製する予定である。そのため、体外受精胚を遺伝子診断し、無角遺伝子をもつ胚を選別することとした。ところが、遺伝子診断を行うには、桑実胚の一部を顕微鏡下で切り取り、それからDNAを抽出する必要がある。この操作は胚の品質を著しく下げ、着床率の低下を招く。そこで、ピエゾマニピュレータを用いて、胚の透明帯のみ穿孔を開け、胚の内腔から漏出するDNAを用いることとした。この方法では、胚の細胞を傷つけることがないので、発生率や着床率に影響を及ぼさないと期待される。体外受精によって作製した(黒毛×無角)F1胚を対象に、ピエゾマニピュレータで穿孔を開けた。培地をテンプレートとしてPCRを行った。1回目のPCRではバンドが得られなかった。Nested-PCRを行ったところ、穿孔ありの培地を用いた場合、バンドが得られ、胚の遺伝子型を判定できた(図2)。

以上の結果から、体外受精胚の培地を用いて無角遺伝子の遺伝子診断を行う手法を開発した。

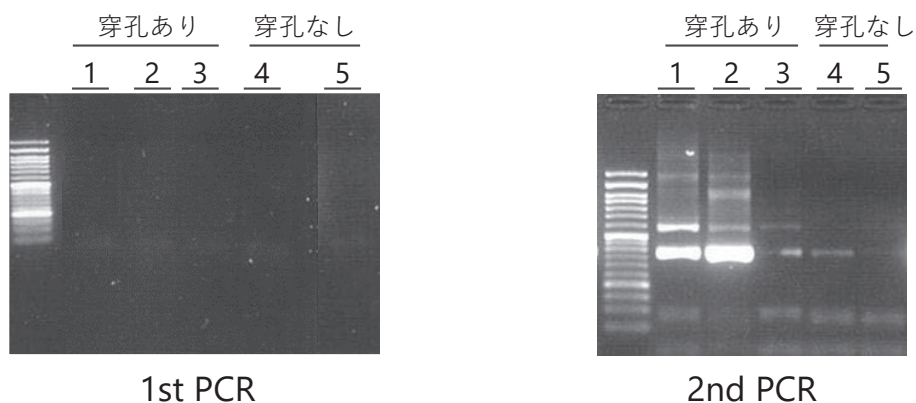


図2 体外受精胚の培地を用いた無角遺伝子の遺伝子診断  
Nested PCRを行った。1回目のPCRでは、バンドが得られなかったが、2回目のPCRでは穿孔ありの培地でのみ、ヘテロバンドが得られた。

### (3) 多型情報の収集

イクウタ、サクラカゲフジの精子 DNA を用いて全ゲノムシーケンスを行い、レファレンスファイ列にマッピングした。その結果、レファレンス配列に対して、イクウタでは 1504 個、サクラカゲフジでは、5317 個の一塩基多型 (SNP) が検出できた。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

なし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

### (1) F1「庫之助」の育成と精子採取

「庫之助」は雄であるために、戻し交雑 N2 世代を得るには、精子が必要である。しかし、雄牛は、体格が大きくなり、気性も荒くなるので、通常 10 か月齢までに去勢される。牛は 10 か月齢では、受精可能な精子が成熟している時期であるが、個体差がある。10 か月齢には、去勢を行い精巣上体尾部から精子を採材する。

### (2) 胚の遺伝子診断

胚の遺伝子診断は、効率的に本研究を進めていくうえで必須である。選別する胚は、雌で、かつ、できるだけ黒毛の遺伝的背景をもつものが望ましい。今後は、Y 染色体上のマーカーを利用した性別判定や SNP マーカーを利用した遺伝的背景のジェノタイピングが行えるようにする必要がある。

### (3) 多型情報の収集

今年度得られた多型情報は、レファレンス配列に対する多型情報である。今後、イクウタとサクラカゲフジを比較し、両者間で多型のある SNP マーカーを抽出する。その後、それら SNP を増幅できる PCR プライマーを設計し、実際に多型があるのかを検証する。

## 10. 公表した成果一覧

その他 (学会発表等)

- 1) 新たな肉用牛「無角黒毛」の創出—生産性とアニマルウェルフェアの向上を目指して—  
2022「東京農業大学HUB構想」シンポジウム、2022年12月9日



# 2022年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 山本 祐司

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)	予算額(円)
玄米摂取が非アルコール性脂肪肝に及ぼす影響の分子機序の解析	SDGs3:すべての人に健康と福祉を	3,352,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山本 祐司	応用生物科学部 農芸化学科・教授	統括と玄米中の機能性活性法の確立
研究分担者	藤巻 貴宏	応用生物科学部 農芸化学科・助教	玄米中の機能性の同定
	亀井 康富	京都府立大学 生命環境科学研究科・教授	玄米中の機能成分の解析
	重村 泰毅	東京家政大学 家政学部栄養科・准教授	玄米中の機能性ペプチドの解析
	白石佳那子	応用生物科学研究科 農芸化学専攻・博士前期課程1年	玄米中の機能性活性法の確立

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日（3年計画の2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

申請者はこれまでに NAFLD 発症モデルでもある Zucker ラットに白米、特に玄米摂取させることで、肝障害マーカーの抑制を伴う、肝臓への脂肪蓄積の抑制効果を認めており、そのメカニズムに一部がビタミン A 代謝を変動させて脂質代謝を改善することを明らかにした。このことから白米や玄米には NAFLD を改善する効果が期待される。これまで、その機能性成分を明らかにする目的で、Zucker ラットに白米と玄米に加えて糠を給餌し、有効成分を含む画分の絞り込みを行った結果、玄米摂取群に顕著な NAFLD 改善効果が見られ、玄米ほどではないものの同様の結果が糠及び白米群でも得られた。糠には脂溶性成分の他にタンパク質を含む水溶性成分が含まれることから、これらを抽出分画することで機能性成分の同定が可能となると考えた。

## 5. 研究目的

食生活の欧米化や運動不足による肥満は、脂質異常症、高血圧、2型糖尿病の原因となるのみならず、肥満は非アルコール性脂肪肝(NAFLD)の原因であり、日本人の10%~30%が罹患していると推定されている。NAFLDは脂肪肝炎を経て、肝癌へと変遷することが知られており、その予防及び改善は医療費負担の軽減や生活の質の向上の観点からも早急にとりくむべき課題の一つである。本研究では先行研究の成果から玄米中にNAFLDを抑制改善する機能性成分を含む可能性が占められたことから、この成分の同定と作用メカニズムを明らかにすることを目的とする。

## 6. 研究(実験)方法

### <脂溶性活性成分の探索>

#### (1) 糠からの脂溶性成分の抽出

玄米のうち脂溶性画分が多く含まれる糠3gにクロロホルム:メタノール=2:1の混合溶液を入れ攪拌、遠心分離を繰り返したのちクロロホルム層に溶出したものを回収し濃縮乾固した。抽出後TLCにてスポットを確認したところ極性の高いものから低いものまで7つ程のスポットを確認することができた。

次に抽出した試料をカラムクロマトグラフィーにて分画を試みた。ヘキサン/ジエチルエーテル/酢酸の混合溶媒の展開溶媒を用いて分画し、分画後TLCにおいてスポットを確認した。

#### (2) 脂溶性成分の機能性解析(ビタミンA生合成経路への影響)

ビタミンAの最終産物であるレチノイン酸は自身を分解する酵素CYP26A1を用量依存的に発現させ体内のビタミンA濃度を一定に保つことが知られている。そのため本研究ではルシフェラーゼ遺伝子の上位にCYP26A1遺伝子プロモーターを組み込んだpGL3-Basic-hCYP26A1P-E4 LuciferaseをHepG2細胞へトランスフェクションし、ルシフェラーゼ活性によってビタミンA代謝活性を測定する系を構築した。その後この系を用いて糠のクロロホルム、メタノール混液で抽出した油溶成分を細胞に添加しビタミンA代謝活性を調べた。また、レチノイン酸合成酵素ALDH1A1の遺伝子発現量解析も同様に糠抽出物を添加しRT-PCRにて解析した。

#### (3) 脂溶性成分の機能性解析(FOXO1転写活性を制御する因子の検索)

FOXO1はフォークヘッド型の転写調節因子であり、肝臓では糖新生や脂質利用の遺伝子発現を促進することが知られる。米糠の中に、FOXO1の転写活性を調節し、脂質利用活性化など生体の代謝調節に役立つ成分がある可能性を検討した。そのために、米糠の抽出物をin vitroでのFOXO1転写アッセイ系に供して解析を実施した。細胞はHEK293T細胞を使用した。細胞が90%以上コンフルエントになったところでトランスフェクションに使用した。プラスミドはpM FOXO1(GAL4-FOXO1融合タンパク質発現プラスミド)、4×UAS TK Luc(レポーターのホタルルシフェラーゼの上位にGAL4認識配列であるUASを組み込んだプラスミド)、を使用した。プラスミドのトランスフェクション5時間後、米糠抽出物を1 μL/well添加した(n=4)。20時間培養した。Luc活性値はレポーターであるホタルルシフェラーゼ(FF-Luc)の活性値を内部標準であるウミシイタケルシフェラーゼ(RL-Luc)の活性値で割った値で評価した。

### <水溶性活性成分の探索>

#### (1) 米タンパク質分解物の脂質代謝への影響

木徳神糧株式会社より供与された、腎臓病患者の治療食として使用されている低タンパク米の製

造工程で生じる米蛋白質分解物（ERP）が脂質代謝改善効果を有するのか検討した。対照群を 60% 高脂肪飼料（HFD-60, オリエンタル酵母株式会社 Cont 群）として設定し、ERP を与えた ERP 群（60% 高脂肪飼料の組成から ERP のタンパク質、炭水化物量を置き換えて Cont 群と ERP 群のタンパク質、脂質、炭水化物のエネルギー比がほぼ同一になるように調製した）の 2 群を設定した。60 日間の飼育後、屠殺解剖し、脂質代謝に関する項目の生化学的解析をおこなった。また、血液を採取し、血漿を調製した。血漿に対して 3 倍量のエタノールを添加した後、10  $\mu$  L を採取・乾燥し、血漿中のアミノ酸をフェニルイソチオシアネート（PITC）で誘導化した。また同血漿を 110°C で 20 時間加水分解した後に、PITC 誘導化した試料も同様に調製した。PITC 誘導化された試料を HPLC で（試料液 200  $\mu$  L 中 10  $\mu$  L を）分析し、血漿中に含まれる遊離（未加水分解試料）とペプチド態アミノ酸を含む総アミノ酸（加水分解後試料）濃度を測定した。

## （2）糠からのタンパク質精製

上記実験で用いた ERP は酵素処理により素手のアミノ酸やペプチドに分解されており、米タンパク質の摂取による生理的消化プロセスを経ていない。そこで、米タンパク質の機能性を解析する目的で、糠からのインタクトなタンパク質抽出の方法の検討をおこなった。方法として、糠をアミラーゼおよびセルラーゼで処理し、酢酸で沈澱をさせることでタンパク質の粗精製を試みた。

## （3）NAFLD モデル細胞の構築

先行研究で明らかにした潜在的ビタミン A 欠乏状態の NAFLD モデル細胞の構築を目指し、ヒト肝癌由来細胞（Huh-7 細胞）に、これまで報告のある fructose を添加して細胞内の脂肪量の検討を試みた。この時、培地中のグルコース濃度の影響についての検討をおこなった。

## 7. 研究成果

ルシフェラーゼアッセイでは糠抽出物（脂溶性）添加によりルシフェラーゼ活性が上昇した一方で RT-PCR では ALDH1A1 の遺伝子発現量に変化はみられなかった。これらの結果より、糠の油溶性成分はビタミン A 代謝を活性化することが示された。しかしその効果はレチノイン酸合成酵素 ALDH1A1 の遺伝子発現量増加によるものではない可能性が示された。従って糠抽出物の効果は ALDH1A1 の遺伝子発現ではなくタンパクレベルや酵素活性に影響を与えて NAFLD を改善している可能性があると考えている。また、糠抽出物（脂溶性）添加が FOXO1 の転写活性を有意に減少させた。

一方、タンパク質分解物を高脂肪食を与えた肥満モデルマウスに ERP を摂取させたところ、体重および精巣周囲脂肪重量の増加が抑制された。また、ERP 摂取により糞中 TG 量が増加した。さらに、血中 ALT 活性と肝臓中脂質量の結果から、ERP 摂取は高脂肪食に起因する肝障害を抑制することが示された。興味深いことに、ERP 摂取によりインスリン抵抗性に関連する CerS6 の発現量低下も観察された。ERP は主にペプチドと遊離アミノ酸から構成されていること、また一部の血中遊離アミノ酸濃度と精巣周囲脂肪重量との間に負の相関関係が認められたことから、本研究で観察された効果はペプチドと遊離アミノ酸のどちらかあるいは両方を介していると考えられる。これらの結果から、ERP は抗肥満食品として有用な素材であることが示唆された。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

### 脂溶性画分の機能性成分の同定

脂溶性成分の機能性については今後さらに分画をすすめて、最終的にある程度の精製した画分を解析する必要があると考えている。

米タンパク質粗精製は電気泳動の解析結果から抽出に成功したと考えられた。また、NAFLD のモデル細胞については明確な結果を得るに至らなかったことから今後詳細に検討をする必要がある。

ERP は高脂肪食によって起こる肥満や肝障害の予防に効果的であることが示唆された。これは、加水分解によって生成したペプチドや遊離アミノ酸に起因するものと考えられる。興味深いことに、本研究の結果には米タンパク質を用いた先行研究の結果と異なる部分も見受けられた。ERP のさらなる研究により、米タンパク質にはない ERP 特有の機能性も期待できる。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) 松本雄宇、岩崎優、細川恵、鈴木司、井上順、重村泰毅、高野克己、山本祐司 低タンパク質米製造過程で生じる抽出米タンパク質分解物が脂質代謝に及ぼす影響 食品科学工学会誌 (掲載可)

### 学会発表

- 1) 山本祐司、松本雄宇、岩崎優、細川恵、鈴木司、井上順、重村泰毅、高野克己、米抽出米タンパク質分解物が脂質代謝に及ぼす影響 第65回 食生活学会大会(岡山) 発表
- 2) 白石佳那子、鈴木司、井上順、山本祐司 NAFLD を改善する玄米成分の探索 第65回 食生活学会大会(岡山) 発表

# 2022年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 小川 英彦

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)	予算額(円)
動物個体生産向上を目指した胚の着床能獲得を支持する子宮液内因子の解明	SDGs 3.7	3,350,000

## 2. 研究組織

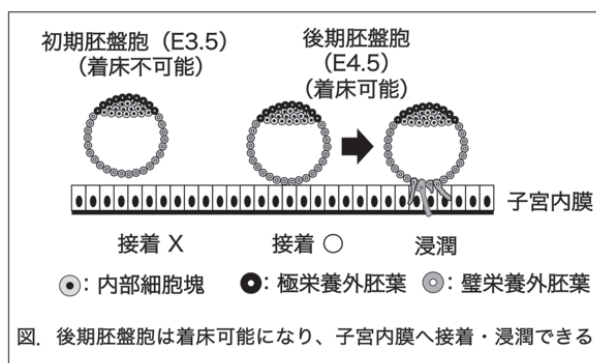
	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	小川 英彦	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	解析試料採取と胚や生体を用いた評価
研究分担者	川崎 信治	生命科学部 分子微生物学科・教授	プロテオーム・メタボローム解析
	樋浦 仁	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	miRNA 解析
	佐藤 拓海	生命科学部 分子微生物学科・准教授	プロテオーム・メタボローム解析
	志波 優	生命科学部 分子微生物学科・准教授	全体のデータ解析

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

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



床期に集中する。従って、着床効率を改善・向上させることは妊娠成立の高率化、産子率向上に必要である。

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

## 5. 研究目的

マウス胚盤胞期胚では、壁栄養外胚葉が分化することで着床能を獲得する。この細胞分化に伴う着床能獲得には、転写因子 CDX2 が壁栄養外胚葉特異的に発現消失することが必須であることを我々は明らかにした（公表した成果：学術論文1）。さらに、マウス胚盤胞の壁栄養外胚葉における CDX2 の発現動態を調べた結果、E3.5（受精後 3.5 日）の胚盤胞では壁栄養外胚葉で CDX2 が発現しているのに対し、E4.5 では完全に消失していたことから、マウス胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子は E3.5 から E4.0 の子宮液内に存在すると考えられる。さらに、E3.5 の胚盤胞をウシ胎子血清（FBS）添加培養液で体外培養することでも CDX2 が壁栄養外胚葉特異的に発現消失したことから、FBS にも着床能獲得のトリガーとなる因子が存在することが明らかとなった。

そこで、E3.5、E4.0、E4.5 の妊娠子宮から回収した子宮内液や FBS を用いて、胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子を同定することを最終目標とする。

## 6. 研究（実験）方法

### （1）メタボローム解析に適したウシ胎子血清（FBS）処理方法の検討

昨年度、子宮液から着床を誘導する因子を同定する前に、我々が CDX2 の発現低下を引き起こすことを見出した FBS を用いて着床を誘導する因子の特徴を調べた。その結果、100℃、10 分間加熱してタンパク質を変性させた FBS（HT-FBS）が、胚のディッシュ上に接着・伸展し成長していく現象（outgrowth）抑制したことから、着床を誘導する因子は、タンパク質以外の物質であると予想された。したがって、因子を見つけるためにはメタボローム解析が適切であると考えられた。

そこで、メタボローム解析に適した FBS の処理方法をさらに突き詰めるために、新たに、デキストラン活性炭処理によりステロイド除去した FBS（DC-FBS 区）、Bligh & Dyer 法によりタンパク質と脂質を除去した FBS（BD-FBS 区）を用いて、胚の Outgrowth 評価を行った。

### （2）メタボローム解析に使用する子宮液の検討

E3.5、E4.0 および E4.5 の子宮から KSOM 培地を用いて灌流し子宮液を回収した。回収した子宮液を用いて E3.5 日の胚盤胞を 48 時間体外培養後、*Cdx2* の発現量を qPCR 法により解析した。

### （3）In vitro で胚の着床能を評価可能な三次元培養法の確立

本研究では、In vitro で胚の着床能を Outgrowth により評価している。しかし、Outgrowth は二次元的に見られる現象であり、In vivo での着床過程を模倣しているとは言えない。本研究課題の最終目標である着床率向上を評価する最良方法は、胚を子宮に移植後の胚発生を観察することであるが、胚移植技術の習得、胚移植に必要なレシーピエントマウスの準備等に、労力や生体マウスを大量に用意する必要がある。そのことは、動物実験で求められる「3R の原則」に反する。そこで、使用マウスの匹数軽減、

随時可視化できる *In vitro* での新たな胚の着床能を評価可能な三次元培養法の確立を目指すために、以下の実験を行った。

細胞接着ペプチド RGD を含む VitroGel (VitroGel Hidrogel RGD High Concentration; TheWell Bioscience LLC) と Collagen を混ぜて作成したゲルを入れたチューブをインキュベーター内で一晩静置しゲル化した。翌日、E3.5 の胚盤胞を FBS 添加 KSOM 培地とともにゲルの上に載せ、96 時間培養した。培養後、胚の形態を顕微鏡下で観察した。

## 7. 研究成果

### (1) メタボローム解析に適したウシ胎仔血清 (FBS) 処理方法の検討

BD-FBS 区では、FBS 区と同様に胚の Outgrowth が見られたが、その面積は有意に小さくなった。また、DC-FBS 区では、Outgrowth は見られなかった。さらに、DC-FBS 区と比較して FBS 区と BD-FBS 区で、*Cdx2* の発現が低下した。一方、mTE の分化マーカー遺伝子 *Pl-1* の発現は FBS 区と BD-FBS 区で認められたが、発現量は BD-FBS 区で低かった。一方、DC-FBS 区では *Pl-1* の発現は認められなかった。以上のことから、BD-FBS は胚の着床を誘導することが可能である一方、DC-FBS は着床を誘導することができないことが明らかとなった。そこで、BD-FBS と DC-FBS をサンプルとしてメタボローム解析を試みたが、LC/MS のカラムが詰まってしまい、解析には至らなかった。詰りの原因は、除去しきれなかったタンパク質にあると考えられ、サンプルをフィルター処理によりタンパク質を除去したところ、胚の着床能までもなくなってしまった。以上のことから、FBS を用いたメタボローム解析は不可能であると判断し、子宮液を用いた解析に移行することとした。

### (2) メタボローム解析に使用する子宮液の検討

胚の表面が滑らかな上皮性の形態を示す E3.5 の胚盤胞を E3.5 の子宮液で 48 時間培養した結果、形態変化は認められなかった。一方、E3.5 の胚盤胞を E4.0 および E4.5 の子宮液で 48 時間培養した結果、胚の表面が凸凹した形態に変化していた。また、それらの形態は、E4.0 に見られる形態に似ていた。これらの胚では mTE の分化が進行していることが考えられたため、48 時間培養した胚における *Cdx2* の発現量を調べた結果、E4.0 および E4.5 の子宮液で培養した胚での発現量は E3.5 の子宮液で培養した胚の約半分に低下していた。以上の結果から、*Cdx2* の発現を低下させる因子は、E4.0 および E4.5 の子宮液に含まれていることが明らかとなった。

### (3) *In vitro* で胚の着床能を評価可能な三次元培養法の確立

VitroGel のみを使用した場合、ゲルが硬いためか胚はゲル上で Outgrowth した。そこで、ゲルを軟化させるために Collagen を加え、VitroGel : Collagen = 9:1 のゲルで胚を培養したが、VitroGel のみと同様にゲル上で Outgrowth が観察された。さらにゲルを軟化させるために VitroGel : Collagen = 1:1 のゲルを作成したところ、ゲルは一晩静置しても液状のままであり、胚が浸潤する様子は観察されなかった。固形の柔らかいゲルにするために VitroGel : Collagen = 5:1 のゲルを作成し培養したところ、胚はゲル上で Outgrowth したが、VitroGel のみや VitroGel : Collagen = 9:1 のゲルとは異なり胚の形態が保たれており Outgrowth の面積が小さくなる事が確認された。以上の結果から、VitroGel に Collagen を添加した場合は胚の形態を保ちながら Outgrowth が観察されたことからゲルの硬度が低い方が胚は浸潤に近い形態をとる事が予想された。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

研究成果（1）および（2）をもとに、最終目標である着床獲得のトリガーとなる物質を同定するために、E3.5、E4.0 および E4.5 の子宮液を用いたメタボローム解析を行っていく。E4.0 および E4.5 の子宮液に特異的に含まれている因子を抽出し、その中から胚の着床能を促進する因子を特定する。

また、研究成果（3）についても研究を進めていく。現時点での胚の形態観察に加え、mTE の分化の度合いを分化マーカー遺伝子の発現解析により明らかにする。それらの結果から、着床能評価に最適な三次元培養方法を決定する。確立した培養方法は、メタボローム解析により抽出した因子のうち、本研究課題の最終目標である着床能を促進する因子の特定に利用する。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Daisuke Suzuki, Keisuke Sasaki, Soichiro Kumamoto, Keisuke Tanaka, Hidehiko Ogawa (2022). Dynamic changes of gene expression in mouse mural trophoctoderm regulated by *Cdx2* during implantation. *Front Cell Dev Biol* 10:945241.

### 学会発表

- 1) 鈴木大介、佐々木亮介、小川英彦 転写因子 *Cdx2* の下方制御はマウス壁栄養外胚葉の分化及び胚盤胞の Outgrowth に必要である 第 63 回日本卵子学会学術集会（2022 年 5 月、メルパルク京都）



# 2022年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 佐藤 みずほ

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)	予算額(円)
With/After COVID-19 の持続可能な Food Supply Chain に向けたシナリオ分析	COVID-19, Sustainable Food Supply Chain, Scenario Analysis, Food loss and waste	3,200,000

## 2. 研究組織

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

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日(3年計画の2年目)

## 4. 研究の背景(当初)

2015年の国連サミットで採択された「持続可能な開発のための2030アジェンダ」に示された「持続可能な開発目標(SDGs)」において、小売・消費レベルでの食品廃棄を世界全体で半減するという目標が掲げられた。国際連合食糧農業機関(FAO)のデータによると食料の1/3(約13億トン)は毎年廃

棄されており、金額にすると約 7,500 億ドルにもなっている。わが国も例外ではなく、2017 年のデータによると、食品廃棄は年間約 2,600 万トンも発生しており、中でも食べられるにも関わらず廃棄される食品ロスの量は約 600 万トンとされている。さらに、これらの量は 2019 年に発生した新型コロナウイルス（COVID-19）の影響を受けて増加している可能性がある。例えば、COVID-19 の感染拡大防止のため、学校の休校、外出自粛、飲食店の営業時間短縮などの要請が出された影響により、食品サプライチェーンでは、利用されない食品が発生している。これらの食品は、他の用途に流用されなければ廃棄されてしまう。また、消費者でも、緊急事態宣言に伴い、大量に食品を購入したものの、食べきれずにそのまま廃棄されてしまったケースも見られる。また、COVID-19 による食品サプライチェーンへの影響は一時的な変化で終わって将来的には元に戻るものもあれば、COVID-19 以前に戻らないものもあると考えられる。そのため、実態を把握した上で、今後の持続可能な食品サプライチェーンを考えていく必要がある。

## 5. 研究目的

本研究では、COVID-19 による食品サプライチェーンへの影響の実態調査を実施する。得られた実態調査の内容から、持続可能なフードサプライチェーンのシナリオ分析のための基礎資料として、消費者とそれ以外のアクター（小売店、外食産業）の COVID-19 の影響及び因果関係を明らかにすることを目的とする。

## 6. 研究（実験）方法

### 6.1 研究方法概要

本研究は下記のような Step1~4 で構成されており 2 年目は Step1 での実態調査の続き及び Step2 のシナリオ分析のための基礎資料として消費者のコロナ禍での食行動の変化について因果ループ図、共起ネットワーク、複線径路等至性モデリング等を用いて分析を行った。また、それ以外のアクター（小売店、外食産業）についても因果ループ図にまとめた。本報告では主に因果ループ図の結果を示す。（※本研究 PJ としては Step2 までとする。）

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

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

Step 3：各段階にあった食品廃棄低減化方法の提案

Step4：Step3 で出たアイデアの実装とその効果の評価

### 6.2 コロナ禍の因果ループ図の作成

コロナ禍の因果ループ図については、主に第 1 波（2020 年 4 月）と第 2 波以降に分けて、その影響を、インタビューや参加型モデリングを実施しながら因果関係図にまとめた（図 1）。

消費者については、主に都市部在住（東京 2 名・神奈川県 1 名）、非年部在住（長野県 1 名・新潟県 1 名・石川県 1 名）の主婦（子供有）の方々のグループインタビューの発話記録を基に作成した。食品小売店については、関東を中心に約 180 店舗展開している食品専門スーパーの担当者からのインタビュー、日本全国に約 300 店舗展開している食品専門スーパーの担当者、コンビニ店員と参加型モデリングを基に作成した。さらに外食産業については、関東を中心に約 300 店舗展開している居酒屋チェーン店の店員、日本に約 1500 店舗展開しているカフェチェーンの店員、日本に約 200 店舗展開しているファミリーレストランの担当者及び外食産業の専門家との参加型モデリングを基に作成した。

また、消費者の発話記録から共起ネットワークを作成した。共起ネットワークは、Jaccard で名詞、サ変名詞、固有名詞、人名、地名、未知語、タグ（今回の分析で指定した語、例：新型コロナウイルス、緊急事態宣言など）、動詞など上位 100 語を対象とし、「最小スパニング・ツリー」を作成した。「最小スパニング・ツリー」は、つながりを維持出来る最小限にまで辺の数を抑えたネットワークで、ネットワークを簡素化して表示できる手法である。

## 7. 研究成果

### 7.1 研究方法概要

消費者、小売業者、外食産業の COVID-19 の影響について図 1 に示す。青ライン (Same Direction) は、「同じ方向」を意味し、「片方の要因が増加すれば矢印の先の要因も増加する」ことである。また、青点線 (Same Direction+Delay) は、「同じ方向だが矢印の先の要因がすぐに変化せずにやや遅れて起きること」を意味する。赤ライン (Opposite Direction) は、「反対方向」を意味し、「片方の要因が増加すれば矢印の先の要因は減少する」ことである。赤点線 (Opposite Direction +Delay) は、「片方の要因が増加すれば矢印の先の要因はやや遅れて減少すること」である。また、図のポストイットの色は、黄色はループのレバリッジ・ポイント、緑・グレー色は変数、そして、ピンク色はそのループから表現できるメンタル的なことを示しており、濃いピンク色の方がより深いメンタル的なことを表現している。

### 7.2 コロナ禍の因果ループ図の結果

#### (1) 消費者の因果ループ図 (図 2)

消費者の COVID-19 の影響としては、1 つ目は、COVID-19 の感染者数の増加により「外出の頻度」が抑えられ、家庭で食事をする時間が増加し、「肉食」や「中食」の利用増加が伺えた。しかし、時間が経つにつれて「食事計画の負荷」から消費者の「自炊疲れ」が伺えた。2 つ目には、COVID-19 感染予防への意識が高まるにつれ、健康への意識も高まり、「健康的な献立を立てる頻度」、「健康的な食生活の頻度」が増加しており、このような意識の変化から小売業の「野菜への関心需要」が増加していた。また、グループインタビューの結果を第 1 波 (2020 年 2 月末～6 月) と第 2 波以降 (2020 年 7 月以降) に分けて共起ネットワークの発話記録を分析した (図 3)。その結果、第 1 波 (Wave1) の際には「テレワーク」、「職場」、「出社」といった仕事に関する語が特徴的であった。一方で、第 2 波以降 (Wave2) では語が多様化しており、生活パターンが多様化していることが伺えた。また、食に着目すると「野菜」の近くに「意識」(or「考える」、「続ける」)といった語が共起しており、野菜の取り扱いについて意識の変化に関する発言があることから、COVID-19 感染の流行期によって変化の内容が異なり、COVID-19 流行の後半になるにつれて野菜などの食材の活用が進んでいる傾向が示唆された。また、複線径路等至性モデリングの結果からも消費者の健康意識が継続していることが伺え、消費者のポジティブな変化が確認できた。このように COVID-19 感染拡大予防から健康意識が高まることは、食意識においてもポジティブな変化と捉えられ、家庭で「食事を豊にする」傾向が考えられる。そこで、グループインタビューの発話記録の結果から「食を豊かにする」内容に含まれそうな語 (鮮度、楽しい、レパートリー、レシピなど) をコーディングして分析した (図 4)。その結果、「食を豊かにする」に含まれる「レパートリー」「レシピ」の語が「好き」「毎日」といった語や「料理」と近くに現れていることが確認できた (図 4)。このことは、レパートリーやレシピを増やすという行為について「好き」という意識であると共に、第 3 波に至って、食事の何らかの習慣が定着していることが窺われる。このことから、COVID-19 の流行期によって変化の内容が異なり、特に COVID-19 の流行後半になるにつれて新たな料理のライフサイ

クルが定着することが確認できた。また、同じようにポジティブな変化として、栄養価や彩りにも配慮し、レパートリーを増やすことが出来たかを確認するため、「野菜」の語がどのような文脈で語られているかを確認した。「野菜」の語を中心とした共起ネットワークを図5に示す。その結果、「野菜」が「食べる」「コロナ」「使う」といった語と近くにある。このことは、感染期に野菜を「使う」、「食べること」を「意識」するようになったという変化があったことが確認できる。以上のことから野菜の利用は食へのポジティブな意識に結びついていることが確認された。

また、食品ロス・廃棄については、感染リスクを抑えるために「買い物頻度の減少」により、むだな買い物がなくなり、「食材を使い切る」ようになり食品ロス・廃棄発生が抑えられている傾向であった。

さらに都市部と非都市部では、COVID-19の影響が異なり、それにより食意識・食行動にも変化が見られるのではないかと考え、その違いを明らかにするために都市部在住者と非都市部在住者に分けて共起ネットワークを作成した。その結果、都市部は非都市部より食行動や食意識の変化が著しいことが伺えた。

今回の分析は、主に主婦を対象としており、それ以外の属性についても検討する必要がある。しかし、このように消費者においては、COVID-19感染予防のためにとった行動が、結果的には、健康、食、環境への意識向上につながっていることが伺え、こういった変化はある程度定着していくと示唆できる。

## (2) 小売業の因果ループ図 (図6)

日本スーパーマーケット協会の調査によると、2020年の年間総売上高は、前年比に対して105.0%であり、調査開始以来、過去最高の数字であった。それに対して2021年の年間総売上高の前年比は99.6%と前年の実績を下回っているが、2020年の売上高はかなり好調な実績であったため、2021年度も好調な実績が続いているといえる。食品小売業者は、2020年4月頃に消費者の巣ごもり需要により、急速な需要拡大のために物流を拡大しようとした。しかし、すぐには対応できず更なる売上の向上につながらなかった。また、来店者数が減少したことにより、「ネットスーパー売上の促進」、「客単価を上げる」、「人気商品のフェイス入れ変え」などの対策がとられた。しかし、どの対策も「従業員の負荷」を増大するものであった。そこで、やや遅れて店舗でのオペレーション業務を減少するためにスーパーマーケットにセルフレジが導入され、従業員の負担を軽減する「業務効率化」が進められ、現在も進められている。また、商品に関しては、消費者の「健康意識の高まり」から「カット野菜」や「ミールキット」といった手軽に調理できる商品数が増加している。商品数が増えることにより、従業員への負荷が増加するが、こういった手軽に調理できる商品数が増加すると、消費者が購入しやすくなり結果的には、店全体の食品ロス・廃棄削減につながるのではないかと示唆された。

COVID-19によって食品小売業である食品専門スーパーの売上は増加したが、従業員の負荷も増加しており、より効率的な運営方法が求められると示唆する。

## (3) 外食産業の因果ループ図 (図7)

日本フードサービス協会の調査によると、2020年外食産業の売上高は前年比に対して市場規模は前年比30.7%減少の18兆2005億円と推計されている。外食産業においては、政府の緊急事態宣言を受けて2020年4月から飲食店の営業自粛及び営業時間の制限が相次ぎ売上が激減した。そのため、店舗外で売上を上げるために「テイクアウト・デリバリー」の利用者の増加が見られた。さらに、客単価アップの具体策として単品メニューからセットメニューを増やすことも検討されていた。また、固定費を削減するために従業員の削減により、COVID-19の感染拡大が収まっても店を運営するのに十分な従業員がお

らずメニューを十分提供できないなど、売上にマイナスの影響がみられた。また、「むだ」を省くという観点から消費・賞味期限が間近な商品の販売促進活動など従業員の環境への意識が向上していた。このように外食産業は、COVID-19により販売戦略の変更を余儀なくされたが、COVID-19 感染拡大が終息してくると元のようなサービスを提供するのに十分な従業員がいないなど、小売店同様に従業員への課題が大きく商品やサービス形態にも今後、大きく影響することが示唆された。

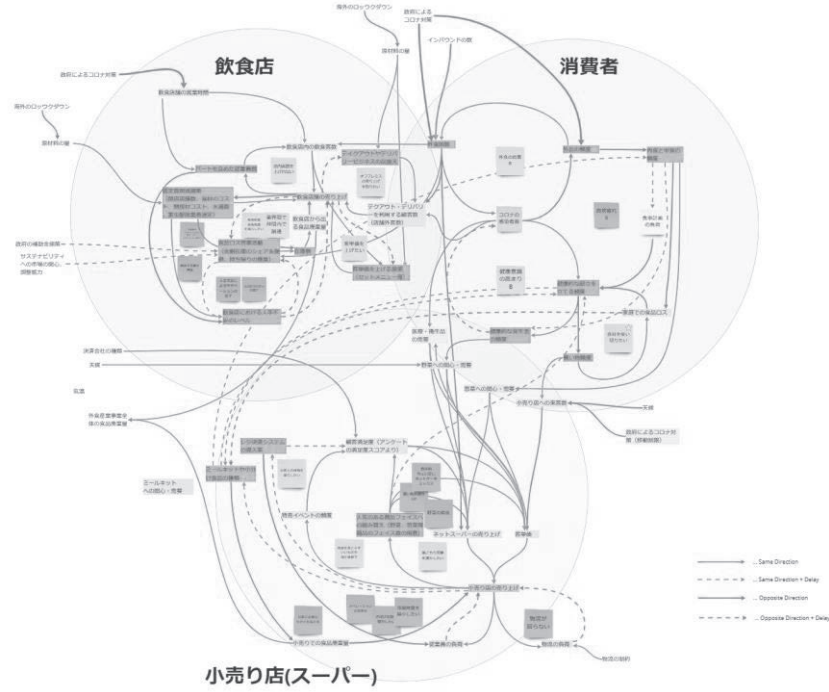


図1：消費者，小売店，飲食店の因果ループ図

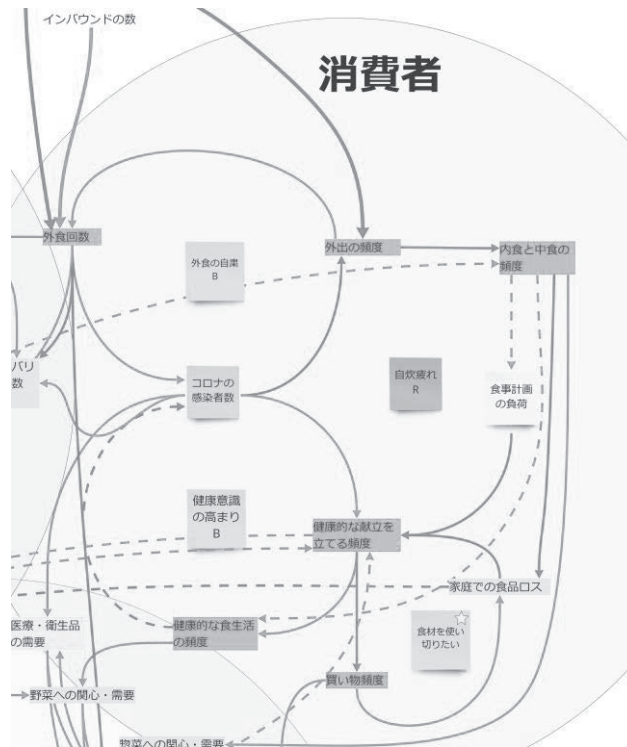
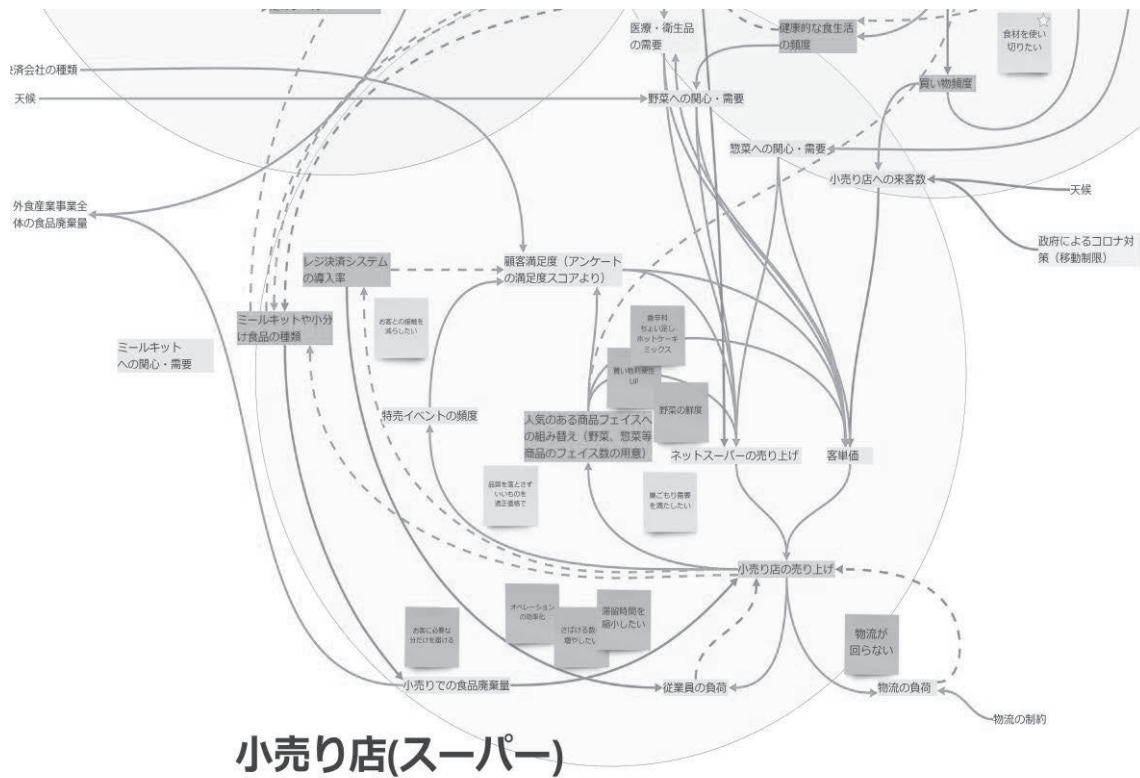


図2：消費者の因果ループ図





### 小売店(スーパー)

図 6：小売店の因果ループ図

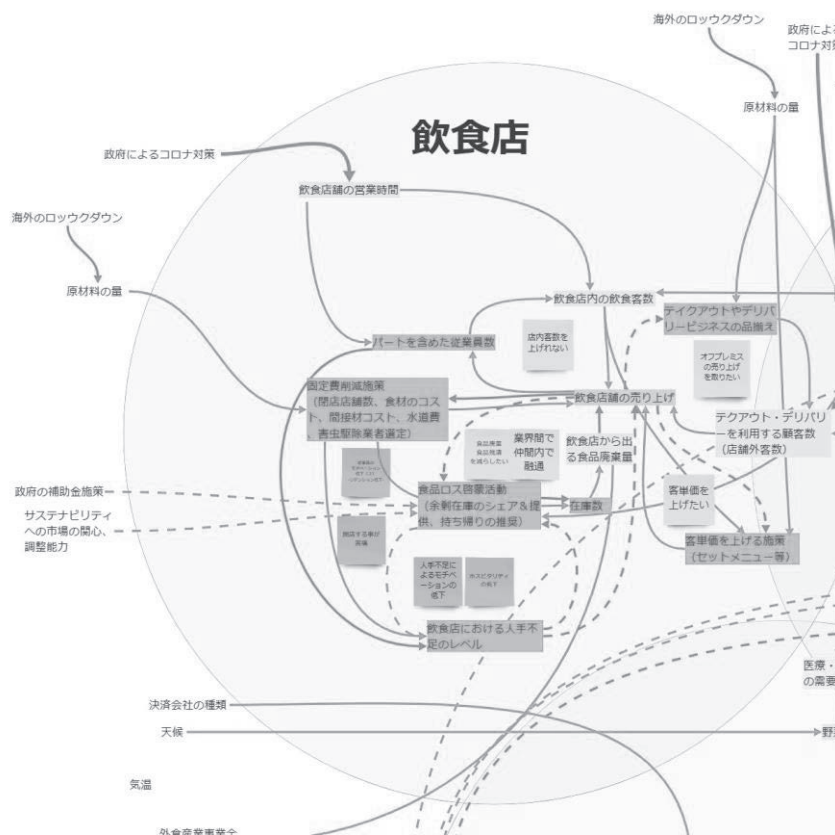


図 7：飲食店の因果ループ図

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

㈱KDDI 総合研究所の循環資源研究に対して、コロナ禍の消費者行動について言及している。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

消費者、小売業、外食産業については、COVID-19 の影響についての因果関係は明らかになってきた。これらのループからシステム・ダイナミックスなどの手法を用いてメンタルモデルの変化によるフードサプライチェーンへの影響を可視化する。その際に消費者の分析結果から、都市部と非都市部において食意識や食行動への影響に差が見られたため、地域差による影響も考慮しながら検討する。また、食品小売業、外食産業において、販売形態や営業形態の変更が伺える。こういった変化に対応して、食品製造業を中心にどのような商品やサービスを提供していくことが持続可能なフードサプライチェーンつながるかのシナリオ分析をシステム・デザイン思考、シミュレーション・ゲーミングなどの技法を活用しながら行い、持続可能性を確保するための方策を検討する。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Mizuho Sato, Hajime Mizuyama : Global Environmental Issues: Food and Agriculture Education to Address Food Loss and Waste, Aiming at a Sustainable Supply Chain :Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 68, 95-97, 2022
- 2) 佐藤みずほ・水山元：消費者セグメンテーションに基づく食品廃棄低減化施策の検討 -食のライフスタイルと食品廃棄行動の関連から-, 日本食育学会誌, 16(4), 157-173, 2022

### 学会発表

- 1) Shiho Tamaki, Maki Nonomura, Nonoka Yasukawa, Mizuki Watanabe, Mizuki Uematsu, Yuji Oura, “ Impact of the spread of COVID-19 on Household food waste: approach using the trajectory equifinality modeling” The International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences Southeast Asia Plant Protection, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia, Nov. 4th, 2022
- 2) 佐藤みずほ・水山元・小川雅俊・松本和宏・曾根田弘光：新型コロナウイルス感染症（COVID-19）による食形態の変化，第24回感性工学会大会，オンライン，2022年9月1日
- 3) 玉木志穂：ローカルフードシステムを活用した食品ロス削減の取り組み，日本食品科学工学会－第69回大会－シンポジウム，東京，2022年8月24日
- 4) 野々村真希：家庭内使用場面から見た食品ロスの課題，日本食品科学工学会－第69回大会－シンポジウム，東京，2022年8月24日
- 5) 佐藤みずほ：フードシステム全体から見た食品ロスの課題，日本食品科学工学会－第69回大会－シンポジウム，東京，2022年8月24日
- 6) 井上絵理，佐藤みずほ：COVID-19における子育て女性の食意識・食行動の変化-都市部と非都市部を対象として，地域活性学会第15回研究大会（兵庫県豊岡市）発表予稿集，282-283，2023



# 2022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 伊藤 晋作

## 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)
アフリカ実用作物を対象としたストライガ防除機構の解明と分子育種	SDGs (2. 飢餓をゼロに)	3,500,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	伊藤 晋作	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	研究統括、阻害剤の評価
研究分担者	伊澤かんな	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	ゲノム編集ソルガムの作出
	入江 憲治	国際食料情報学部 国際農業開発学科・教授	アフリカ実用作物への効果の検討
	斉藤 竜男	生命科学部 分子生命化学科・准教授	ストリゴラクトンの合成

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日（3年計画の1年目）

## 4. 研究の背景（当初）

根寄生雑草ストライガは、アフリカ全域で主要作物に寄生し、生育不良、収量の減少を引き起こす。被害額は年間100億ドルに達すると試算されており、アフリカの「飢餓をゼロに」するための最重要問題と考えられている。ストリゴラクトン（SL）は植物が生産、分泌する生理活性物質であり、現在までに40種類程度のSLが報告されている。ストライガは土壤中でSLを認識し、発芽、寄生する一方、植物体内では植物ホルモンとして作用し、作物収量やバイオマス量を決定する重要因子である枝分かれ制御物質として、さらに植物共生菌との共生シグナルとしても作用することが知られている。現在SLを合成できない生合成変異体はストライガに寄生されないことが報告されているが、植物ホルモン作用や共生菌との共生抑制に起因する収量減も引き起こす。さらにアフリカ実用作物での生合成変異体の報告はないことから、アフリカ農業への応用には大きな障壁があった。

## 5. 研究目的

申請者らはこれまでにジャポニカイネを対象とし、SL 生合成阻害剤の創製研究を行ってきた。その過程で SL 生合成酵素である CYP711A の阻害は一部の SL を選択的に阻害し、「ストライガの寄生は抑制されるが、植物ホルモン作用や共生菌との共生作用にはほとんど影響しない」というストライガ防除にとって理想的な植物形態を誘導することを見出してきた。CYP711A は植物に広く保存された遺伝子であり、理想的なストライガ耐性作物作出のための標的となりうる。一方、植物の合成する SL 類は品種や植物種によって大きく異なるため、本技術のアフリカ実用作物への適用には、現地栽培種での CYP711A 阻害の効果検証が必須である。そこで本研究ではアフリカ実用作物へのストライガ防除剤の効果を検証するとともに、高活性ストライガ防除剤、ストライガ耐性ソルガムの作出を目指す。

## 6. 研究（実験）方法

### 1、アフリカ有用作物への応用検討（入江、伊藤）

- 1-1. アフリカ作物の生産する SL 分析系の確立
- 1-2. CYP711A 阻害剤のアフリカ有用作物への効果検討

### 2、ストライガ耐性作物の作出（伊澤、伊藤）

- 2-1. 形質転換に適したアフリカ品種ソルガムの選抜
- 2-2. ゲノム編集ソルガムの作出

### 3、高活性薬剤の創出と作用メカニズムの解析（伊藤、斉藤）

- 3-1. アフリカ作物 CYP711A の活性測定
- 3-2. アフリカ作物 CYP711A に対する高活性阻害剤の選抜

## 7. 研究成果

### 1、アフリカ有用作物への応用検討（入江、伊藤）

#### 1-1. アフリカ作物の生産する SL 分析系の確立

ソルガムは 5-デオキシストリゴール (5-DS) およびソルゴモールをストリゴラクトンとして生産、分泌していることが知られている。一方、ソルゴモールが検出されない品種もあることが報告されており、5-DS がソルガムにおける主要なストリゴラクトンであると考えられる。そこで、5-DS の分析系の確立を行った。5-DS はジャポニカイネの主要な SL である 4-デオキシオロバンコール (4-DO) の異性体であるため、4-DO 分析系を用いて 5-DS 標品の分析を行い、検量線を作成したところ、10 pg-300 pg の範囲で定量が可能であることがわかった。そこでソルガムを用いて水耕液から 5-DS の検出を試みたところ、5-DS の検出が確認できた。

#### 1-2. CYP711A 阻害剤のアフリカ有用作物への効果検討

CYP711A 阻害剤として TIS108 を用いてアフリカ作物への枝分かれや収量への影響を評価した。TIS108 処理および無処理における生育期間中の陸稲品種 (NERICA 4 および IS452)、ソルガム、トウモロコシの草丈および葉齢について調べた。イネの草丈では品種間で異なる傾向を示し、陸稲品種の NERICA は生育初期から TIS108 処理区に比べて、無処理区の草丈の伸長が大きかったのに対し、水稻品種の IR64 では生育中期から無処理区に比べて、TIS108 処理区の草丈の伸長が大きく推移した。ソルガムおよびトウモロコシは同様の傾向を示し、生育中期から TIS108 処理区に比べて、無処理区の草丈の伸長が大きく推移した。生育段階を示す葉齢は、いずれの作物において、明らかな差は見られなかつ

た。

収穫期における収量関連形質の草丈、稈長、穂長、穂数、穂重について、分散分析による有意差検定を行ったところ、草丈は無処理区に比べて、TIS108 処理区において長くなったが、その他の形質について有意差は認められなかった。今回、草丈の伸長については 3 種類の作物に差がみられたことから、TIS108 は、作物の形態形成に何らかの作用があると推察された。

## 2、ストライガ耐性作物の作出（伊澤、伊藤）

### 2-1. 形質転換に適したアフリカ品種ソルガムの選抜

ソルガムの形質転換は困難であることが知られているが、その原因として一つにアグロバクテリウム感染処理後に未熟胚およびカルスが褐色化することが挙げられる。そこで、形質転換成功例のあるソルガム (Tx-430) での形質転換プロトコルを参考にアグロバクテリウム感染後の褐色化を指標にして形質転換に適した品種の選抜を行った。農業生物資源ジーンバンクより、世界のソルガム・コアコレクションの中から原産地がアフリカのソルガム種子を 34 種取り寄せ、それらを温室内で栽培し、およそ 10 種類で未熟種子を得た。得られた未熟種子をアグロバクテリウムへの感染操作を行い、カルスを誘導したところ、ほとんどの種子では褐色化し、生育しなかったものの、1 品種のみ (B-112) 褐色化せず、カルスが誘導された。

### 2-2. ゲノム編集ソルガムの作出

遺伝子導入実施例の多い Tx430 の他、遺伝子導入が報告されている SA281、ゲノム解読が行われている BTx623 でアグロバクテリウム法による遺伝子導入を実施した。SA281、BTx623 は培養初期で著しく褐変化してしまい培養を進めることができなかった。Tx430 は現在再分化培地上でシュート形成が進んでいる。これまでの経験上、得られたシュートは導入遺伝子を持たないエスケープ個体であることが多い。そのため、シュートが 5cm 程度に生育後、発根培地選抜及び PCR により導入遺伝子の確認を行う。今後はアグロバクテリウム法による最適な遺伝子導入条件を検討し、ゲノム編集ソルガムの育成を目指す。

## 3、高活性薬剤の創出と作用メカニズムの解析（伊藤、斉藤）

### 3-1. アフリカ作物 CYP711A の活性測定

CYP711A はソルガムにおいて 4 つ、トウモロコシにおいて 3 つ存在することが知られている。これらの中で、CYP711A の主要な酵素活性と考えられているカーラクトン (CL) からカーラクトン酸 (CLA) への変換活性が報告されている、SbMAX1a および ZmMAX1b について酵母にて異種発現させ、マイクロソーム画分を取得した。この画分を用いて CL を基質として酵素反応を行い、LC-MS/MS にて CLA のフラグメントを確認することで酵素活性を評価したところ、どちらの酵素を発現させたマイクロソーム画分でも CL から CLA への変換を確認できた。また SbMAX1a は CLA から 18-OH-CLA を合成することも知られているが、SbMAX1a 発現マイクロソーム画分では OH-CLA と予想されるフラグメントも確認できた。

### 3-2. アフリカ作物 CYP711A に対する高活性阻害剤の選抜と合成

3-1 で活性を確認できた 2 種の CYP711A の阻害活性を TIS108 およびイネにおいて TIS108 よりも 100 倍近く高活性な阻害剤 (化合物 A および化合物 B) を用いて確認した。10  $\mu$ M の TIS108 を用いてソルガム SbMAX1a およびトウモロコシ ZmMAX1b 阻害効果を確認したところ、どちらも阻害効果が確認できたことから、TIS108 はイネ以外の作物においても CYP711A を阻害することが明らかとなった。続いて TIS108 と化合物 A および化合物 B との阻害活性を比較した。SbMAX1a 阻害活性は化合物 A および化合物 B ではどちらも 1  $\mu$ M 処理で OH-CLA への変換を阻害したものの、TIS108 は活性を阻害しなかった。ZmMAX1b においてはどの化合物でも 1  $\mu$ M 処理で CLA への変換を阻害した。

さらに化合物 B の合成戦略を見直し、合成中間体から多様な化合物 B 類縁化合物の合成を実現した。その結果、化合物 B を含む類縁化合物の量的供給が可能となった。来年度も引き続き活性評価をもとに分子設計を進めていく。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究の基盤となった、「イネにおいて CYP711A の阻害はストリゴラクトンによるストライガの寄生は抑制するが、植物ホルモン作用や共生菌との共生作用には影響しない」という成果は、11月に Science Advances 誌に掲載され、共同研究先である東京大学、宇都宮大学と共同でプレスリリースを行った。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

ストライガ耐性ソルガムと予想されるソルガム CYP711A (SbMAX1a) のゲノム編集体の作出はまだ作成途中であるが、ソルガムの生産する SL 分析系の確立や、ソルガム、トウモロコシの CYP711A (SbMAX1a および ZmMAX1b) の *in vitro* 活性測定系の確立により、本研究を進めるにあたり必要な実験系の確立を行うことができた。また、ソルガムおよびトウモロコシの CYP711A 阻害剤としても TIS108 が利用可能なことを明らかにすることができ、さらに TIS108 より強力な阻害剤として化合物 B を見出すことができた。化合物 B に関しては大量合成法も確立することができ、化合物 B によるアフリカ作物個体を用いた CYP711A 阻害効果の検証を行うための基盤を確立できたと考えている。一方、TIS108 を用いた CYP711A 阻害のアフリカ作物への効果検討は今年度の研究開始が 6 月であったことから最終的な収量などの調査が難しかったため、来年度は 4 月よりソルガムやトウモロコシの生育を開始し、調査を行う必要がある。来年度の具体的な研究推進方策は以下の通りである。

### 1. アフリカ有用作物への応用検討 (入江、伊藤)

トウモロコシ、ソルガムに CYP711A 阻害剤として TIS108 を処理し、その効果を評価する。今年度は 7 月より生育調査を開始したため、9 月、10 月以降の気温低下の影響で収量調査などができなかったため。本年度は 4 月より生育調査を開始する。

### 2. ストライガ耐性作物の作出 (伊澤、伊藤)

#### 2-1. 形質転換に適したアフリカ品種ソルガムの選抜

カルス化効率の高いアフリカ品種「B-112」に着目し、形質転換を進める。ゲノム編集用ベクターを改変し GFP 遺伝子も同時に発現させるベクターを構築し、形質転換効率の確認や、GFP 発現確認による形質転換カルスの選抜により、エスケープ個体を抑えつつ取得を目指す。

#### 2-2. ゲノム編集ソルガムの作出

引き続き形質転換個体の選抜を行う。全てがエスケープ個体であったことを考慮し、遺伝子導入条件の最適化を行うことでゲノム編集ソルガムの作出を目指す。

### 3. 高活性薬剤の創出と作用メカニズムの解析 (伊藤、斉藤)

今年度確立した合成経路を改変することで多様な化合物を合成し、CYP711A に対し高活性な阻害剤の創製を続ける。さらに、化合物 B を大量合成し、来年度以降にアフリカ作物への活性評価に必要な化合物量を確保する。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Ito S, Braguy J, Wang JY, Yoda A, Fiorilli V, Takahashi I, Jamil M, Felemban A, Miyazaki S, Mazzarella T, Chen GRE, Shinozawa A, Balakrishna A, Berqdar L, Rajan C, Ali S, Haider I, Sasaki Y, Yajima S, Akiyama K, Lanfranco L, Zurbriggen MD, Nomura T, Asami T, Al-Babili S. Canonical strigolactones are not the major determinant of tillering but important rhizospheric signals in rice. *Science Advances* 8(44):eadd1278. 2022
- 2) Jiang K, Wang J, Ito S, Takahashi I, Ohta T, Murase K, Nakajima M, Guo H, Takayama S, Asami T. Analysis of the physiological roles and mode of actions of phthalimides as GA signal regulator in rice. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2022
- 3) Ito S. Recent advances on the regulation of root parasitic weed damage by strigolactone-related chemicals. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. In press.

### 学会発表

特になし

# 2022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 志和地 弘信

## 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)
植物生育促進・窒素固定細菌の作物生産への利用技術の開発	貧困をなくす、飢餓をゼロに、陸の豊さを守る。	3,490,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	志和地弘信	国際食料情報学部 国際農業開発学科・教授	総括・国際熱帯農業研究所との調整
研究分担者	田中 尚人	生命科学部 分子微生物学科・教授	細菌のデータベース作成
	菊野日出彦	国際食料情報学部 宮古亜熱帯農場・教授	細菌の作物への接種方法の開発
	パチャキル バビル	国際食料情報学部 国際農業開発学科 准教授	細菌を利用した栽培技術の開発
	志波 優	生命科学部 分子微生物学科・准教授	共生細菌のメタゲノム解析
	山本 紘輔	生命科学部 分子微生物学科・准教授	細菌の共生メカニズムの解明

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日（3年計画の1年目）

## 4. 研究の背景（当初）

研究代表者らは国際熱帯農業研究所（International Institute of Tropical Agriculture : IITA ナイジェリア）や鹿児島大学とヤムイモの生産性改善に関する共同研究を行ってきた。そして、本学の宮古亜熱帯農場における高収量品種の育成過程で窒素がほとんどない土壌でも良く生育するダイジョ（ヤムイモの一種）A-19系統を発見した（Takada *et al.* 2017）。

A-19系統は根粒菌などの多くの種類の窒素固定細菌と共生しているのが世界で初めて確認され、窒素固定の寄与率が38%以上あった（Takada *et al.* 2018）。さらに、ダイジョから分離された窒素固定細菌の *Rhizobium* sp.は、ゲノム解析からマメ科の根粒細菌の仲間ではあるが、ヤムイモに内生するために特化した新種の細菌と推定された(Ouyabe *et al.* 2020)。また、ヤムイモの共生細菌には窒素固定能だけでなく、インドール酢酸の生成、リン酸カルシウム可溶化活性並びにキレート鉄を生成する能力を同時に有する

数属があり、植物生長促進細菌として特許申請を行った（特願 2019-209500、特願 2020-193418）。さらに、5 種類の細菌をそれぞれイネ（陸稲）に接種したところ、いくつかの細菌で生育を促す効果が見られ、細菌の作物生産への利用に道を開く成果を得た(Ouyabe *et al.* 2020)。この技術は化学肥料の入手が困難な途上国に有効と考えられ、また微生物を利用した農業は日本が目標とする有機農業の推進・化学肥料の低減を目指す（みどりの戦略）次世代の技術になると期待される。

## 5. 研究目的

研究の当初は2系統のヤマイモを用いたが、その後、宮古亜熱帯農場の 19 系統を調査したところ、18 属 22 種の窒素固定細菌が見つかった (Ouyabe *et al.* 2019)。これらの窒素固定細菌のうち 9 株が前述の 3 つの活性能力を合わせ持っていた。そのうち増殖が容易だった 7 種の細菌(*Agrobacterium* sp. 2 系統株、*Enterobacter* sp.、*Pantoea* sp. 2 系統株、*Mesorhizobium* sp.、*Lelliottia* sp.)は植物生長促進細菌(PGPB)として特許申請を行った。次に、これらの 7 種の細菌について、まず、窒素固定能力が高かった *Agrobacterium* sp.をヤマイモに接種して、生育に及ぼす影響を調査した。その結果、イモの重量及び葉の窒素含有量が大きくなった (Liswadiratanakul *et al.* 2021)。さらに、*Agrobacterium*、*Mesorhizobium*、*Pantoea* 及び *Enterobacter* sp.の細菌をそれぞれイネに接種したところ、*Mesorhizobium* sp.、*Agrobacterium* sp.、*Enterobacter* sp.が生育を促した(Ouyabe *et al.* 2020)。これらは、人工気象器での小規模な実験での結果ではあるが、PGPB を作物生産に利用できる可能性を示すものであった。PGPB を活用した低投入型農業を実現させるためには、対象作物に適した細菌接種や肥培管理技術が必要である。本研究では最適な PGPB 群のパッケージを作成し、圃場レベルの栽培に有効な接種・肥培管理技術を開発する。

## 6. 研究（実験）方法

**課題 1 ヤマイモ（ダイジョ・ジネンジョ）に適応する PGPB 活性の高い細菌株の選抜と接種**（担当：パチャキル、菊野、田中、志波、大学院博士前期課程学生 樋水、松平、博士後期課程 木原）

ダイジョ・ジネンジョの根から分離・培養された細菌の多くが *Proteobacteria* であり、その中でよく分離されるのは *Rhizobium*、*Mesorhizobium*、*Devosia* 属であった。ダイジョ・ジネンジョに共生する細菌の存在量を調べるためにメタ 16S 解析を行う。メタ 16S 解析による細菌叢と培養法で分離した細菌と一致したものについて PGPB 能力の高い細菌株をパッケージ化し接種試験に供するとともに細菌を活性化させる施肥条件を検討する。

**課題 2 イネへの PGPB の接種技術の開発**（担当：菊野、志和地、田中、Michel、大学院博士前期課程学生 山口、博士後期課程 木原）

窒素固定細菌はマメ科作物だけでなくイネ、サトウキビ、サツマイモなどにも共生していることが明らかになっている。昨年には Ouyabe *et al.* (2020) の研究で用いたイネ品種に内生する窒素固定細菌を生育段階ごとに調査したところ、生育全般を通して共生が確認されたのは *Firmicutes*、*Actinobacteria*、*Proteobacteria* であった。また、イネから分離された細菌で PGPB 活性が高いのは *Microbacterium* sp.と *Enterobacter* sp.であった（未発表）。これらの細菌がイネの生育に関与していると考えられることから接種試験に供するとともに細菌を活性化させる施肥条件を検討する。

**課題 3 PGPB の接種がトウモロコシ、ソバへの生育に及ぼす影響**（担当：山本、志和地、田中、学部生 2 名）

細菌の作物種への感染を確かめるために蛍光タンパク質 (GFP) を組み込んだ PGPB の *Agrobacterium* sp.をヤマイモ・イネ・トウモロコシ・ソバに接種したところ、全ての作物で細菌が根の細根から侵入す

る様子が確認できた (森ら 2021)。トウモロコシ・ソバ・トマト・サツマイモについて *Agrobacterium* sp. の接種が生育に及ぼす影響を調べ、基礎的な知見を得る。

## 7. 研究成果

### 課題1 ヤムイモ (ダイジョ・ジネンジョ) に適応する PGPB 活性の高い細菌株の選抜と接種

#### (1) ダイジョ A-19 に共生する細菌叢

ヤムイモに共生していた細菌の多くは根から分離された *Proteobacteria* であり、その中の占有種は *Rhizobium*, *Mesorhizobium* 及び *Devosia* 属であった。しかし、培養法で分離・同定される PGPB がヤムイモの生育を促す主要な細菌であるかは不明である。そこで主要な共生細菌を特定するためにヤムイモのメタゲノム解析法を確立した。ダイジョに共生する細菌のメタ 16S 解析を行った結果、細菌叢は門および属レベルで部位ごとに違いがあることが確認され、土壌、根圏土壌・根、茎・葉のグループにそれぞれ特定の細菌属が存在した (Kihara *et al.* 2022)。細菌叢は門レベルでは 40 が検出され、それぞれの細菌属の存在率が明らかになった (表 1)。Proteobacteria, Acidobacteria, Patescibacteria 及び GAL15 の 4 門が主で、Proteobacteria が最も多く存在した。Proteobacteria では 5 属の存在量が多く、それは *Allorhizobium* – *Neorhizobium* – *Pararhizobium* - *Rhizobium* 系統群、*Burkholderia* – *Caballeronia* - *Paraburkholderia* 系統群、*Bradyrhizobium*、*Pseudomonas* 及び *Stenotrophomonas* であった。これら 5 属は窒素固定能を持ち、ダイジョの生育促進に寄与していると考えられた。

表 1 ダイジョに内生する細菌属とその存在率 (%)

4 属 (>20%)	19 属 (>2%)	16 属 (<2%)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Stenotrophomonas</i></li> <li>• <i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia</i></li> <li>• <i>Pseudomonas</i></li> <li>• <i>Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter</i></li> <li>• <i>Ralstonia</i></li> <li>• <i>Paenibacillus</i></li> <li>• <i>Streptomyces</i></li> <li>• <i>Achoromobacter</i></li> <li>• <i>Dyella</i></li> <li>• <i>Bradyrhizobium</i></li> <li>• <i>Bacillus</i></li> </ul> <p style="text-align: right;">など</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Labrys</i></li> <li>• <i>Chryseobacterium</i></li> <li>• <i>HSB OF53-F07</i></li> <li>• <i>Cupriavidus</i></li> <li>• <i>Bryobacter</i></li> </ul> <p style="text-align: right;">など</p>

#### (2) ジネンジョ PGPB 候補株の接種による生育促進効果の検証

ジネンジョ PGPB 候補株のスクリーニングを目的とした 2021 年度の栽培試験にて、茎葉繁茂期 (90 Days After Planting: DAP) のジネンジョ根の細菌叢を構成する種数は栽培土壌よりも有意に少なく、*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* 系統群、*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* 系統群、*Herbaspirillum* 属、*Pseudomonas* 属が占有率上位 4 系統群であり、これらで全体の約 65.4% の占有率であった。また茎葉繁茂期 (90 DAP)、生殖成長期 (180 DAP) のジネンジョ根から *Agrobacterium*、*Burkholderia*、*Herbaspirillum*、*Labrys*、*Luteibacter*、*Novosphingobium*、*Pantoea*、*Paraburkholderia*、*Phyllobacterium*、*Pseudomonas*、*Rhizobium* 属株を分離した。窒素固定能、リン溶解能、IAA 産生能、シデロフォア産生能の評価及び属レベルでの菌叢構造より、*Burkholderia*、*Herbaspirillum*、*Paraburkholderia*、*Rhizobium* 属株をジネンジョの PGPB 候補株として選抜した。2022 年度の栽培試験ではこれら PGPB 候補株の接種試験を実施し、茎葉繁茂期 (接種後 90 日目) において上記 4 属株の共接種区は対照区と比較



し植物体の乾燥重量・全炭素量の有意な増加が認められた。この結果から接種した *Burkholderia*、*Paraburkholderia* 属株はリン供給、*Rhizobium* 属株は根の生育促進効果があるジネンジョ PGPB である可能性が示された。

ダイジョとジネンジョに共生する細菌は共通することが明らかになった。

### (3) PGPB 活性の高い細菌の選抜とダイジョ A-19 への接種効果

ダイジョに共生する細菌のメタ 16S 解析の結果をもとに、存在率の高い *Proteobacteria* の中で PGPB 能力の高い細菌株を選抜した。選抜指標は窒素固定能、インドール酢酸の生成(IAA)能力、リン酸カルシウム可溶化活性(PSI)の高いものとし、ダイジョ A-19 系統の主要細菌と推定された S-60 (*Neorhizobium*), S-64 (*Rhizobium*), S-163 (*Enterobacter*), S-392 (*Stenotrophomonas*), and 1615 (*Ralstonia*)を選んだ。

これらの細菌パッケージをダイジョ A-19 の植物体へ接種した。しかし、植物体の生育への促進効果は認められなかった。一方で、A-19 の植物体の細菌のメタ 16S 解析の結果では接種細菌は根 (R)、根圏 (Rh) において主要な共生細菌となっており、人為的な細菌接種で自然の共生と交換できることが判った(表 2) (Liswadiratanakul *et al.* 2023)。接種細菌の根圏の多様性は接種後 16 週が最大になり 35 属が確認された。また、*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* 系統群は A-19 系統のコアバクテリアであることが再確認され、ダイジョ A-19 系統は自然の状態 PGPB との共生の親和性が高い品種と考えられた。

### (4) *Rhizobium sp.*を主とした PGPB 活性の高い細菌の選抜と接種効果の品種間差異

これまでにダイジョ、トゲイモ (ヤムイモの一種) から 45 株の窒素固定細菌を分離・保管している。ほとんどが *Proteobacteria* である。ダイジョ及びトゲイモの多くの系統から共通に分離される *Rhizobium sp.*を主として接種細菌パッケージを作成し、*Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium mesosinicum*, *Neorhizobium alkalisoli*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium sp.*を選んだ(表 3)。これらを MR 培地で増殖し、接種細菌パッケージ (コア細菌) を作成した。

次に、ダイジョの A-19, 62, 64, 133 系統に上記 5 種類の PGPB を接種し、人工気象器内で栽培した。90 日後の生育は A-62 において葉の生育が大きくなった(表 4)。PGPB の接種の効果は系統で異なった。対照のダイジョの系統に共通する細菌は phyla *Actinobacteria* (51.85-87.45%), *Proteobacteria* (9.71-34.05%), *Firmicutes* (1.15-2.66%), and *Bacteroidota* (0.19-9.64%)であることが明らかになった。細菌を接種したダイジョでは *Proteobacteria* が増加した一方で、*Actinobacteria* が減少した。

表2 Relative abundance (percent of total good-quality sequences) of the introduced bacteria in the root (R), rhizosphere (Rh), and bulk soil (BK) samples as affected by inoculation with the synthetic bacterial community.

		R			
WAP	Treatment	<i>Rhizobium</i> / <i>Neorhizobium</i>	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Ralstonia</i>
8	Pre-inoculation	8.25	0.00	0.00	0.00
16	Control	2.25	0.01	0.00	0.00
	Inoculation	2.04	1.46	1.04	0.21
20	Control	15.37	0.02	0.04	0.00
	Inoculation	3.15	0.03	3.25*	0.23
		Rh			
WAP	Treatment	<i>Rhizobium</i> / <i>Neorhizobium</i>	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Ralstonia</i>
8	Pre-inoculation	3.42	0.00	0.00	0.00
16	Control	1.58	0.00	0.00	0.01
	Inoculation	2.78	0.17*	0.43	0.25
20	Control	3.67	0.01	0.11	0.00
	Inoculation	3.46	0.14	0.33	0.13
		BK			
WAP	Treatment	<i>Rhizobium</i> / <i>Neorhizobium</i>	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Ralstonia</i>
8	Pre-inoculation	0.75	0.59	0.00	0.00
16	Control	1.10	0.58	0.00	0.46
	Inoculation	0.66	0.00	0.00	0.00
20	Control	0.34	0.00	0.00	0.00
	Inoculation	0.37	0.07	0.00	0.00

Values represent the average relative abundance. Asterisks (\*) indicate a significant difference between treatments on the same harvesting date according to a nonparametric Mann-Whitney test (P = 0.05). Numbers in red indicate 0% relative abundance. WAP, weeks after planting

表3 選抜した PGPB: インドール酢酸の生成(IAA)、リン酸カルシウム可溶化活性(PSI)に優れる窒素固定細菌 (コア細菌)

Strain Accession	Closely related species	Growable on MR	PSI	IAA (μg/ml)
S-12	<i>Rhizobium radiobacter</i>	+	1.3 ± 0.1	29.5 ± 0.2
S-17	<i>Rhizobium mesosinicum</i>	+	2.6 ± 0.1	0.6 ± 0.3
S-60	<i>Neorhizobium alkalisoli</i>	+	1.7 ± 0.1	3.2 ± 0.3
S-84	<i>Rhizobium tropici</i>	+	1.9 ± 0.1	2.1 ± 0.8
3E-17	<i>Rhizobium</i> sp.	+	2.1 ± 0.2	4.1 ± 0.9

表4 Effects of inoculation with a synthetic essential core bacterial community on growth and chlorophyll

contents at 90 days after inoculation.

Yam accession	Treatment	Leaf area (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )	Leaf DW (g plant <sup>-1</sup> )	Stem DW (g plant <sup>-1</sup> )	Root DW (g plant <sup>-1</sup> )
A-19	Control	250.6 ± 38.5 <sup>ns</sup>	0.8 ± 0.2 <sup>ns</sup>	0.9 ± 0.2 <sup>ns</sup>	0.6 ± 0.1 <sup>ns</sup>
	Inoculation	250.7 ± 59.0	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.5	0.7 ± 0.3
A-62	Control	811.6 ± 66.7*	1.9 ± 0.1**	0.9 ± 0.3 <sup>ns</sup>	1.6 ± 0.3 <sup>ns</sup>
	Inoculation	1020.9 ± 97.4	2.6 ± 0.2	1.0 ± 0.2	2.0 ± 0.3
A-64	Control	617.0 ± 126.8 <sup>ns</sup>	1.4 ± 0.4 <sup>ns</sup>	0.8 ± 0.2 <sup>ns</sup>	1.4 ± 0.6 <sup>ns</sup>
	Inoculation	640.5 ± 117.9	1.6 ± 0.3	1.0 ± 0.3	1.7 ± 0.5
A-133	Control	761.6 ± 33.2 <sup>ns</sup>	1.7 ± 0.1 <sup>ns</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>ns</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>ns</sup>
	Inoculation	856.6 ± 181.6	2.0 ± 0.3	0.9 ± 0.1	1.6 ± 0.2

## 課題2 イネへのPGPBの接種技術の開発

### (1) 施肥条件の違いによるPGPB接種効果の評価

試験は東京農業大学宮古亜熱帯農場で実施した。土壌は宮古島の低肥沃心土とし、ポット試験とした。イネは深根性遺伝子Dro1品種のKinandang Patongを用いた。試験は細菌の接種区(処理区)と非接種区(対照区)を設け肥料投入を100, 50, 0%に設定した。細菌の接種方法は浸漬接種とした。イネはインキュベーターで7日間生育し発根させた後、菌液に1~2日浸漬させポットへ移植した。イネから分離された細菌でPGPB活性が高いのは*Microbacterium* sp.と*Enterobacter* sp.であったことから(未発表)、接種細菌は*Rhizobium* sp.と*Enterobacter* sp.から選んだ。イネの生育は施肥量の影響が確認されたが、細菌の接種の効果が見られなかった。現在、イネの細菌のメタゲノム解析を進めており、その結果を反映した細菌の選抜を進める予定である。

表5 選抜したPGPB

Strain Accession	Closely related species	Growable on MR	PSI	IAA (μg/ml)
S-8	<i>Enterobacter roggkampii</i>	+	1.7	27.0
S-12	<i>Rhizobium radiobacter</i>	+	1.3	29.5
S-163	<i>Enterobacter bugandensis</i>	+	1.8	87.2
S-187	<i>Enterobacter huaxiensis</i>	+	1.8	68.6
1624	<i>Enterobacter</i> sp.	+	2.4	115.2

## 課題3 PGPBの接種がトウモロコシ、ソバ、トマト、サツマイモへの生育に及ぼす影響

企業との打ち合わせで、野菜類への細菌接種の効果を検討してほしいとの要望があり、PGPBのトマト・サツマイモへの利用も検討することにした。GFPで標識した*Agrobacterium* sp.S-343をソバ・トマト・サツマイモの根に接種し、その動態を正立型共焦点立体レーザー顕微鏡にて観察した。

*Agrobacterium* sp.S-343はソバ・トマト・サツマイモの根のいずれにおいても接種後2日目から細根に侵入し、5日後には根の細胞に共生した。Fig.1はトマトの根に共生した*Agrobacterium* sp.である。

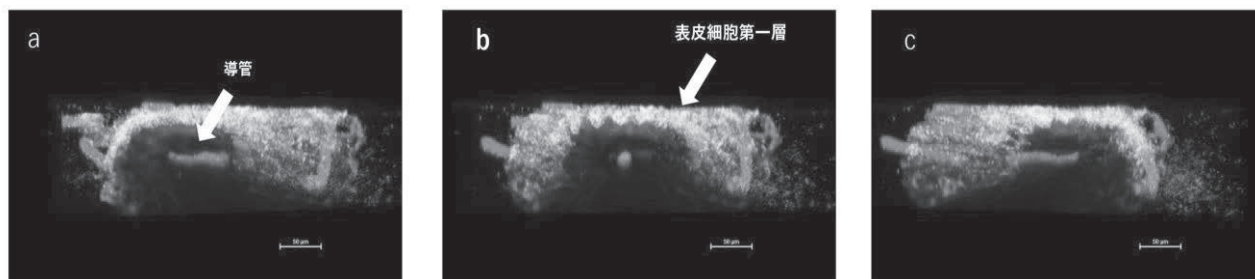


Fig.1 トマト：細菌接種後2日目、断面図、観察倍率400倍

a.左斜から見た断面図 b.正面 c.右斜から見た断面図

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

科学研究費 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）研究課題名 アフリカ農業に向けた植物生育促進細菌の作物生産への利用技術の開発（2022/11~2025）に採択された。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

細菌利用の実用化に向けた試験を重ねる。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Sumetee Liswadiratanakul, Kosuke Yamamoto, Minenosuke Mastutani, Vatane Wattanadatsaree, Shunta Kihara, Yuh Shiwa and Hironobu Shiwachi. 2023. Replacement of Water Yam (*Dioscorea alata* L.) Indigenous Root Endophytes and Rhizosphere Bacterial Communities via Inoculation with a Synthetic Bacterial Community of Dominant Nitrogen-Fixing Bacteria. *Frontiers in Microbiology*. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1060239
- 2) Sumetee Liswadiratanakul, Kosuke Yamamoto, Vatane Wattanadatsaree, Yuh Shiwa and Hironobu Shiwachi. 2023. Effects of Two Different Inoculation Methods Using a Synthetic Essential Core Bacterial Community on Water Yam (*Dioscorea alata* L.). *Tropical Agriculture and Development*. 67: 31-37.
- 3) Kihara, Shunta, Yamamoto Kosuke, Hisatomi Atsushi, Shiwa Yuh, Chu Chia-Cheng, Takada Kanako, Ouyabe Michel, Pachakkil Babil, Kikuno Hidehiko, Tanaka Naoto, Shiwachi Hironobu. 2022. Bacterial community of water yam (*Dioscorea alata* L.) cv. A-19. *Microbes and Environments*. 37 (2): doi:10.1264/jsme2.ME21062

### 学会発表

- 1) Sumetee Liswadiratanakul, Kosuke Yamamoto, Vatane Wattanadatsaree, Yuh Shiwa, Shunta Kihara, Hironobu Shiwachi. Replacement of water yam (*Dioscorea alata* L.) indigenous root endophytes and rhizosphere bacterial communities by the inoculation of a synthetic community of dominant plant-growth-promoting bacteria. Conference No. 132 th, Japanese Society for Tropical Agriculture, Kagoshia University, 15-16 Oct. 2022.
- 2) 松平智輝, Pachakkil Babil, 志和地弘信, 田中尚人, 志波優. ジネンジョ (*Dioscorea japonica*) の植物生育促進細菌の探索. 日本土壤微生物学会 2022 年度大会, オンライン開催, 2022 年 6 月 18-19 日.

# 2022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 司

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)	予算額(円)
未利用資源の付加価値向上を目指した機能性食品成分の探索および農大発・未利用資源ライブラリーの構築	③SDGs (健康, つくる責任)	3,500,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	鈴木 司	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	統括と血糖値低下作用解析
研究分担者	戸塚 護	生命科学部 分子微生物学科・教授	抗炎症成分探索と作用解析
	井上 順	応用生物科学部 農芸化学科・教授	抗動脈硬化作用の解析
	藤巻 貴宏	応用生物科学部 農芸化学科・助教	活性成分の探索と単離精製

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日（3年計画の1年目）

## 4. 研究の背景（当初）

農産物の作物残渣の有効活用は食料・農業・農村基本法が掲げる循環型社会の形成において重要な課題の一つとして挙げられている。また、食品リサイクル法や SDGs の観点からは、食品製造の過程で生じる食品廃棄物の削減・再利用が急務となっている。この問題に対して、古くからワラ類や製造粕類などの副産物を堆肥や家畜飼料へと再利用することが行われており、一定の成果が上げられている。しかし、収穫時期・地域が偏在していたり水分含量が多く変質し易かったりと仕向率が低いもの、または利用されないものも多く存在する。そのため、これらを再利用可能資源とするための補完的な手段が求められている。

一方、近年では国民の機能性食品に対する関心が高まっており、食品成分の機能性を利用した特定保健用食品や機能性表示食品などが数多く開発・販売されていることから、我が国の食品関連の研究の方向性は食品の新規機能性の開発に向かっているとと言える。以上のことから、食品の未利用資源から機能性を持つ食品成分の探索・開発を行うことは、本学やSDGs が解決すべき目標として掲げている健康・循環型社会に関する研究に他ならず、重要であると言える。

## 5. 研究目的

本申請者らはこれまでに、キューピー株式会社・株式会社グリーンメッセージとの共同研究にて、カット野菜の未利用部位を試料とした機能性成分の探索を行い、抗動脈硬化作用などを示す複数の試料を見出し、一部においては関与成分の推定も出来た。本研究課題では未利用資源を収集し、成分抽出・分画し、申請者らが持つ抗肥満・抗炎症などのすでに確立した評価系にて機能性評価を行い、新たな機能性成分の発見および未利用資源の再利用化を目指す。また、食品の未利用資源ライブラリーを構築することも目的とする。

## 6. 研究（実験）方法

本年度は、これまでに収集した未解析試料の解析とともに、新たに入手した各種試料を用いて各評価系で解析を行った。ヒットした試料は種々のカラムクロマトグラフィーを用いて分画を行うことで活性成分の単離や試料の解析を行った。

### 抗炎症作用を示す未利用資源の探索（戸塚）

ヒト結腸由来上皮細胞株 Caco-2 細胞を 2 週間培養することで腸管上皮の単層培養系を構築した。炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  を添加し、この刺激で誘導されるインターロイキン-8 (IL-8) の産生量を酵素免疫測定法 (ELISA 法) により定量した。この培養系に各種未利用資源抽出物を添加し、炎症反応の指標である IL-8 産生を抑制する活性をもつ成分を探索した。

### 抗動脈硬化作用を示す未利用資源の探索（井上）

すでに確立しているルシフェラーゼを用いた評価系により試料の選抜を行った。次に、実際に内因性の LDL 受容体遺伝子発現を上昇させるかについて、肝臓由来の培養細胞を用いて検討した。抽出物を HPLC 分取により分画し、有効成分の構造を決定した。

### 血糖値低下作用を示す未利用資源の探索（鈴木）

生活習慣病、特に糖尿病に対して改善効果を有する試料の探索を行った。抽出物を培養細胞に添加し、血糖値の低下を促す AMPK タンパク質の活性状態を解析することで初期評価を行った。この他に、糖尿病はインスリン抵抗性によっても引き起こされることから、インスリン抵抗性の指標となるタンパク質 (AKT など) の活性状態をも解析することで評価法を補完した。

### チロシナーゼ阻害活性評価（藤巻）

マッシュルーム由来のチロシナーゼと、市販されている L-ドーパを 96 穴プレート上で反応させて、メラニン中間体であるドーパクロムを 492nm の吸光度で測定した。この時、抽出した未利用資源ライブラリーも同時に添加することで、サンプルのチロシナーゼ阻害率を算出した。

### FGF21 プロモーター活性試験（藤巻）

申請時以降に確立した評価系である。エンドクライン因子として様々な組織でインスリン感受性改善や糖取り込み促進などの抗肥満効果をもたらす FGF21 に着目し、内因性の FGF21 遺伝子の発現を上昇させる成分を探索する。具体的には既に確立している FGF21 プロモーター領域を用いたルシフェラーゼレポーターアッセイにより試料の選別を行った。

## 7. 研究成果

### 抗炎症作用を示す未利用資源の探索（戸塚）

野菜の未利用部 18 種および利用部 13 種、茶葉 8 種、コーヒー豆 2 種、紅麴粉末 2 種の抽出物を対象として、抗炎症作用を示す物質の探索を行った。その結果、野菜抽出物 8 種、茶葉抽出物 3 種の抽出物を終濃度 0.1 mg/mL で添加した際に弱い IL-8 の産生抑制が観察された。一方、紅麴粉末の 1 種 (3PD-20) を添加した際には IL-8 産生の増強が観察された。添加濃度を 1/2、1/4 に減らした場合に IL-8 産生量は増加したことから、IL-8 産生を増強する成分と抑制する成分が共存している可能性が考えられた。

### 抗動脈硬化作用を示す未利用資源の探索（井上）

サクランボ軸およびブドウ茎抽出物の 0.3 mg/mL 処理により、LDL 受容体遺伝子プロモーター活性が上昇することを見出した。複数品種のブドウ茎について検討したところ、その抑制能とレスベラトロールの含有量が正の相関を示した。この結果から、ブドウ茎抽出物に含まれるレスベラトロールが LDL 受容体遺伝子プロモーター活性を上昇させる有効成分であると考えられる。サクランボ軸抽出物に関しては HPLC を用いた分画後に検討を行い、活性を上昇させる複数の成分の存在を明らかにした。NMR および質量分析による解析の結果、クリシン配糖体が有効成分の一つであることを明らかにした。同定したクリシン配糖体は内因性 LDL 受容体の遺伝子発現を上昇させることに加え、タンパク質レベルさらには LDL 分子の細胞内への取り込みを上昇させることを明らかにした。

### 血糖値低下作用を示す未利用資源の探索（鈴木）

マメ科植物であるササゲの葉（アフリカ産）50%エタノール抽出物において AMPK 活性化能が確認できた。そのため実際に日本で栽培されているササゲ 5 品種を東京農業大学農学科の高畑教授に栽培をして頂き、日本産のササゲにおいても AMPK 活性化能があるか解析を行った。その結果、いずれの品種においてもササゲ葉抽出物で比較的高い AMPK 活性化能が示された他、三尺ササゲにおいて葉よりもサヤにおいてより活性化が認められた。また、いずれの品種においても実において活性化能は認められなかった。

この他に、今年度抽出した茶葉 8 種類（ディンブラ、キャンディ、アッサム、ダージリン、インドネシア、和紅茶、やぶきた、鉄観音）、コーヒー豆 2 種類（ブラジル、ベトナムロブスタ）、ベニコウジカビ 2 種類（5-PD、3PD-20）に関しては鉄観音において AMPK 活性化能が認められた。

### チロシナーゼ阻害活性評価（藤巻）

今年度抽出した茶葉 8 種類（ディンブラ、キャンディ、アッサム、ダージリン、インドネシア、和紅茶、やぶきた、鉄観音）、コーヒー豆 2 種類（ブラジル、ベトナムロブスタ）、ベニコウジカビ 2 種類（5-PD、3PD-20）に関して評価した。その結果、全ての茶葉及びコーヒー豆のサンプルは 0.3 mg/mL において 50% 前後の強い阻害活性を示したが、ベニコウジカビはいずれも明確な阻害活性を示さなかった。

### FGF21 プロモーター活性試験（藤巻）

終濃度 0.1 mg/mL において有意にプロモーター活性を上昇させたサンプルはコーヒー豆（ベトナムロブスタ）とベニコウジカビ（5-PD）の 2 サンプルであった。

## 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

来年度はさらに未利用資源を収集するために、南伊豆地方の未利用資源に関して有効活用を検討しているグローバルコムホールディングや、株式会社 NIJC（原料サプライヤー）等から試料を提供して頂く予定となっている。これらの試料を粗抽出し、各評価系でヒットした試料は種々のカラムクロマトグラフィーを用いて分画を行うことで活性成分の単離や試料のコレクションを行う。

### 抗炎症作用を示す未利用資源の探索（戸塚）

今回 IL-8 の産生抑制が観察された抽出物について、容量依存性を検証する必要がある。その結果から最も高い抑制活性をもつ抽出物に着目して、活性成分の単離、作用機構の解析などを進めていく予定である。一方、IL-8 産生を増強する活性が認められた抽出物については、自然免疫系を活性化する成分を含むものと考えることができ、免疫賦活作用という観点で有用である可能性がある。本課題の本来の目的である抗炎症作用をもつ成分の同定とともに、検討を進めていきたい。

### 抗動脈硬化作用を示す未利用資源の探索（井上）

今後、クリシン配糖体が LDL 受容体遺伝子発現を上昇させる分子機構について検討をおこなう。また、サクランボ軸に含まれる、クリシン配糖体以外の活性成分についても単離・同定を目指す。

### 血糖値低下作用を示す未利用資源の探索（鈴木）

AMPK 活性化能を示したササゲ葉・サヤに関しては活性成分の単離・同定を目指して解析を行う。活性成分の同定後は AMPK を活性化させる分子機構の解析を行う。

### チロシナーゼ阻害活性評価（藤巻）

今回ヒットしたお茶には一般的にカテキンが、コーヒーにはカフェ酸が含まれており、それらの成分は既にチロシナーゼ阻害活性が報告されているため、それらの既知活性成分以外の成分を単離し、構造を同定する。

### FGF21 プロモーター活性試験（藤巻）

今回ヒットしたコーヒー豆（ベトナムロブスタ）とベニコウジカビ（5-PD）が実際に内因性の FGF21 遺伝子の発現を上昇させるのかをリアルタイム PCR により確認する。またこれらの 2 サンプルから、ルシフェラーゼレポーターアッセイの活性を指標に活性成分を単離・同定する。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Chrysin 7-O-β-d-glucopyranoside increases hepatic low-density lipoprotein receptor expression through AMP-activated protein kinase activation. Kaname N, Fujimaki T, Horikoshi S, Fujimura K, Kodaka M,



Wakamori S, Katsuta R, Ishigami K, Suzuki T, Yamamoto Y, Inoue J. FEBS Open Bio. 2023 Aug;13(8):1447-1458. doi: 10.1002/2211-5463.13665.

学会発表

- 1) 金目 尚輝、藤巻 貴宏、藤村 海斗、石神 健、鈴木 司、山本 祐司、井上 順  
<LDL 受容体の発現を上昇させる食品由来成分の探索>  
第 76 回日本栄養・食糧学会大会／神戸 2022 年 5 月
- 2) Naoki Kaname, Takahiro Fujimaki, Kaito Fujimura, Ken Ishigami, Tsukasa Suzuki, Yuji Yamamoto, Jun Inoue  
<Exploring food-derived ingredients that up-regulate LDL receptor expression>  
22nd IUCS-ICN／東京 2022 年 12 月
- 3) Screening for inhibitors of lipid accumulation from Mango kernels. Takahiro Fujimaki, Chikako Sato, Rei Yamamoto, Sayo Watanabe, Hikaru Fujita, Hidehiko Kikuno, Masayuki Sue, Yoshitaka Matsushima, 22<sup>nd</sup> IUNS-ICN international congress of Nutrition in Tokyo, december6-11, 2022
- 4) Niclosamide activates the AMP-activated protein kinase complex containing  $\beta$ 2 subunits independently of AMP sensitivity, Tsukasa Suzuki, Momoko Kojima, Yu Matsumoto, Ken-Ichi Kobayashi, Jun Inoue, Yuji Yamamoto, 22<sup>nd</sup> IUNS-ICN international congress of Nutrition in Tokyo, december6-11, 2022

# 2022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 相根 義昌

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)	予算額(円)
新規抽出技術を用いた微細藻類の代替タンパク質資源としての利用	SDGs②飢餓を ゼロに	3,420,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	相根 義昌	生物産業学部 食香粧化学科・教授	研究の統括・蛋白質の精製
研究分担者	高橋 潤	生物産業学部 海洋水産学科・教授	微細藻類の培養
	中澤 洋三	生物産業学部 食香粧化学科・教授	抽出物の性状解析
	南 和広	生物産業学部 食香粧化学科・教授	抽出液の機能性解析
	Estefanía Noriega Fernández	European Food Safety Authority ・ Scientific officer	抽出技術の開発

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日（3年計画の1年目）

## 4. 研究の背景（当初）

世界的な人口増加や経済的な中間層の拡大に伴う食肉需要の増加が、近い将来、タンパク質の生産不足を招くと予測されている。そこで、現在、着目されているのが「代替タンパク質」である。代替タンパク質資源の候補として、大豆などの高タンパクの農作物、昆虫、酵母そして微細藻類などが挙げられている。微細藻類は、これまでも脂質などの機能性物質の生産手段として利用されているが、タンパク質の含有量が約50%と高い（大豆は37%、酵母は39%、食肉でも43%）ことから、代替タンパク質の資源としても注目されている。一方、オホーツク海は、世界の3大漁場の一つとしても知られ、ホタテやサケなど多くの海洋資源が豊富に得られる。そして、これらの資源を下支えとなるのが、流水に伴って運ばれるオホーツク海特有の微細藻類である。

## 5. 研究目的

本研究は、ノルウェー食品・漁業・水産養殖研究所（Nofima）と共同研究チームを編成し、北海道オホーツク地域に生息する微細藻類からタンパク質の含有量の高い種を選抜、タンパク質産生に最適な培

養法を確立し、藻類からの効率的なタンパク質抽出技術を確立することで、地域の微細藻類を新たな代替タンパク質資源として応用することを目的としている。

本研究の成果は、近い将来、具現化するであろう世界的なタンパク質の生産不足を解消するための一つの手段として活用することが可能であり、SDGs の 3 つ目のゴール「飢餓をゼロに」に貢献するものと期待できる。

## 6. 研究（実験）方法

本研究では、大きく分けて二つのパートに分けられる。一つは、細胞壁破壊による効率的なタンパク質抽出法の確立、また一つは、微細藻類抽出物の機能性の解析である。これらのパートのうち、前者は、共同研究先である Nofima から非公開の要請があるため、公開に差し支えない範囲での記載にとどめることとする。

### 6.1. 微細藻類の培養

細胞破碎試験については、市販の微細藻類（MicroA, Norway）を使用した。各種微細藻類の機能性試験については、*Nannochloropsis oculata*、*Tetraselmis tetrathele*、*Phaeodactylum tricornerutum*、*Chlorella vulgaris*、*Chaetoceros neogracile* の 5 種の微細藻類を、ギラード培地を用いフラスコ内で培養した。培養した微細藻類は遠心分離によって回収し、 $-20^{\circ}\text{C}$  にて保存した。また、必要に応じて、凍結乾燥を行った。

### 6.2. 細胞破碎試験

細胞破碎試験に供する各種溶液は、15 ml をファルコンチューブに分注し、 $4^{\circ}\text{C}$  で 6 時間静置した。その後、各種温度の水槽中に湯煎した。温度平衡後、市販の微細藻類を各ファルコンチューブに 3% (w/v) になるように加えボルテックスによって懸濁した。各ファルコンチューブを水平にしてオービタルシェイカーに設置し、200 rpm で 60 分間攪拌しながら、恒温槽にてインキュベートした。

### 6.4. タンパク質の定量

細胞破碎物からのタンパク質抽出効率を求めるため、抽出液中のタンパク質の定量をおこなった。タンパク質の定量は CL Protein Assay with BSA standard (G Biosciences, USA) を用いて実施した。

### 6.5. 微細藻類抽出物の機能性解析

#### 6.5.1. 抽出物の調製

各種微細藻類 (*Nannochloropsis oculata*、*Tetraselmis tetrathele*、*Phaeodactylum tricornerutum*、*Chlorella vulgaris*、*Chaetoceros neogracile*) 0.5g を乳鉢と乳棒で粉碎し、5 ml の PBS 溶液に懸濁し、15 ml のファルコンチューブに移した。サンプル溶液は、 $4^{\circ}\text{C}$  で 2 時間静置したのち、遠心分離 (1500rpm、10 分) によって上澄み液と沈澱に分離した。得られた上澄み液をエッペンドルフチューブに分注し、機能性試験に使用するまで  $-20^{\circ}\text{C}$  で保存した。

#### 6.5.2. スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 抗酸化活性測定

試料中の抗酸化活性を測定するために、SOD Assay Kit – WST (Dojindo, Japan) を用い、キットの説明書に従って試験した。試料の吸光度は、マイクロプレートリーダーを用いて測定した。

### 6.5.3. DPPH 抗酸化活性測定

試料中の抗酸化活性を測定するために、DPPH Antioxidant Assay Kit (Dojindo, Japan) を用い、キットの説明書に従って試験した。試料の吸光度は、マイクロプレートリーダーを用いて測定した。

### 6.5.4. アンジオテンシン (ACE) 変換酵素活性測定

試料中の ACE 阻害活性を測定するために、ACE Kit - WST (Dojindo, Japan) を用い、キットの説明書に従って試験した。試料の吸光度は、マイクロプレートリーダーを用いて測定した。

## 7. 研究成果

### 7.1. 各種微細藻類抽出物の機能解析

#### 7.1.1. 抗酸化活性

本研究では、微細藻類の抗酸化性を明らかにするため、SOD 活性測定および DPPH 抗酸化活性測定を行った。その結果、SOD 活性測定により *Tetraselmis tetrahele*、*Phaeodactylum tricornerutum*、*Chaetoceros neogracile* の抽出物において、有意な SOD 様活性が見出された。一方、DPPH 抗酸化活性測定においても、*Tetraselmis tetrahele*、*Phaeodactylum tricornerutum*、*Chaetoceros neogracile* の抽出物においてラジカル消去活性が見出された。

#### 7.1.2. ACE 阻害活性

ACE は、アンジオテンシン I から血圧の上昇を引き起こす作用を持つアンジオテンシン II を生成するとともに、降圧ペプチドであるブラジキニンを分解するなど血圧上昇に大きく関与していることが報告されている。本研究では、対象とする微細藻類抽出物が、血圧上昇の改善効果に関連すると考えられる ACE 阻害活性を有するか否かを明らかにするための試験を行った。その結果、*Phaeodactylum tricornerutum* および *Chlorella vulgaris* の抽出物に ACE 阻害活性があることが示された。

本研究では、微細藻類の細胞壁破碎試験についても実験を行い、微細藻類に含まれるタンパク質を効率的に抽出することに成功したが、その結果については、今後、論文発表あるいは特許の申請等の予定があり、共同研究者からの要請により、公開に支障があるため記載しない。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現在のところ、実用化ならびに他の研究に活用された研究成果はなし。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

微細藻類からの効率的なタンパク質抽出に関しては、一定の結果が得られており、今後は、微細藻類抽出物の機能性（抗糖化、チロシナーゼ阻害活性、高血圧抑制効果など）に関する研究について、さらに対象とする機能性を拡大する形で研究を進める予定である。さらに、当初、予定していなかった抽出物に含まれる成分の解析を加えて行うことで、機能性食品や化粧品への応用可能性を検討する。

## 10. 公表した成果一覧

なし

## 2022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 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	2,565,000

### 2. 研究組織

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

### 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の3年目）

#### 4. 研究の背景（当初）

インフラ（インフラストラクチャー、*infrastructure*）とは、その地域の経済発展について、重要な生産や生活の基盤になるものである。ダム・道路・港湾・鉄道・通信施設などの産業基盤、学校・病院・公園などの社会福祉や環境の施設をいう。人工構造物によるインフラ整備は年々進んでいるが、国内には生物（特に植物）を扱ったインフラ整備が古からあった。コロナウイルス感染症の原因の一つに、生態系の崩れもあげられており、その問題は都市でも同じである。特に近年は、国際的レベルで SDGs (Sustainable Development Goals) が掲げられ、日本政府も 2016 年 5 月にその達成を目的として SDGs Promotion Headquarters（推進本部）を設立した。この方針では、森林や海洋における環境保護の他、生物多様性を目的としている(JAPAN The SDGs Implementation Guiding Principles, December 22, 2016, SDGs Promotion Headquarters, Ministry of Foreign Affairs, March 2017 as priority issue)。国土交通省造園部局では、SDGs に基づく都市における生物多様性問題に挑んでいる(Landscape division, City Bureau, Ministry of Land, Infrastructure, Transport and Tourism, 2018 The guide for settling master plan for green on the basis of biodiversity)。

生物の多様性の重要性について、国内外を越えて議論されているが、人と生物の乖離が日々進んでいる。その要因に、生物のもつ機能が直接的には目視でわかりにくいことがあげられる。例えば、植物から人の呼吸に必要な酸素が供給されていると言っても、目にすることはできず、とりあえずは都市でも呼吸はできる。近年は特に空気清浄機の技術開発も進んでいて、迅速な空気浄化を望むのなら空気清浄機を使った方が効率も良いと思ひこむ。植物は、景観鑑賞用として注目されているが、かつては食料の他に、薬、家具、建築物など、生活の中で多く利用されていた。人々は、近年の電気を中心とした便利な生活の中で、そのことも忘れてしまっている。換言すればかつての植物にも多くのインフラ機能があった。

土木・建築分野が先行するインフラが「グレーインフラ」と呼ばれ、それに対して生物（特に植物）によるまちづくりを「グリーンインフラ」と称し、国土交通省を始め、各自治体、産業界で施行されるようになってきた。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とされている。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滅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には不明な点が多い。学術的にその用語の意味や内容、定義、範疇について曖昧なまま社会に広がってきた。

#### 5. 研究目的

気候変動時代に適応したグリーンインフラの実態と枠組みを、アジア5都市（横浜、北京、上海、ソウル、マニラ）を対象にして、アジア・モンスーン地域におけるグリーンインフラ実装に向けた枠組みをみるため、(1)グリーンインフラの範疇と定義、(2)土地情報の定量化、(3)都市域の水循環調節機能の試算と展開、(4)都市域の生物多様性機能を明らかにすることを本研究の目的とした。特に本研究は、アジア・モンスーン地域に立地する3つの海外協定校、及び造園学で先進的といわれているドイツの海外協定校を中心に行った。

本共同研究は、国際的比較を通して、SDGsにおける「13.気候変動に具体的な対策を」、「11.住み続けられるまちづくりを」に取り組むものである。また連携する大学と造園科学科は、毎年教員・学生間の

積極的な交流を行っており、大学間の研究者のみならず、学生参加による国際ワークショップや交流を行った。

## 6. 研究（実験）方法

### (1) グリーンインフラの範疇と定義

自治体レベルで展開されるグリーンインフラ戦略や計画の実態把握、および概要整理を行った。グリーンインフラ戦略や計画の進捗は各都市で差があるため、特徴や概要をアジアの5都市、及び国内の国（国交省・環境省）、横浜市、世田谷区を対象として調べ、グリーンインフラ戦略・計画に関連する事項をまとめた。調査は、現地踏査、文献、及びヒアリングによって行った。

### (2) 土地情報の定量化

グリーンインフラの現況情報を取得するためには、対象地域における植生の状況を定量的に把握する必要がある。植生の活性度を表す指標としては、植物の近赤外画像から算出される NDVI (Normalized Difference Vegetation Index: 正規化植生指標) が有用である。従来、NDVI はリモートセンシングの技術として人工衛星からの観測によって得られるパラメータとして広く応用されてきた。一方、近年は NDVI の観測を UAV (Unmanned Aerial Vehicle: 無人航空機、通称ドローン) によって近接域で実施する事例も増えてきているが、現時点での観測対象は農作物の生育判断に限られている。本研究では近赤外画像の撮影が可能であるカメラを UAV に搭載し、対象地の土地情報の定量化を試みた。調査は、2020年11月12日に神奈川県横浜市金沢区にある称名寺庭園にて、2022年1月19日に瀬谷市民の森にて実施した。使用した近赤外カメラは、一般的なデジタルカメラを改造して販売されていて NDVI の算出が可能な Yubaflex (Bizworks 社製) である。また UAV は Yubaflex のペイロードが確保される Inspire 1 および Inspire 2 (DJI 社製) を用い、対象地の上空 75m より網羅的に飛行撮影を実施した。

### (3) 水循環調節機能の試算と展開

研究対象である横浜市では用途地域に基づき雨水流出量抑制を実施しているが、緑地や土地被覆は流域対策の検討項目に含まれていない。そこで本研究では、横浜市大岡川上流域の2小流域を対象に、土地利用種、土地被覆、土地利用形態の3つのレベルの土地分類を軸にグリーンインフラ実装に向けた土地分類の緻密化の有用性について知見を得ることを目的とした。研究方法としては、横浜市のグリーンインフラ政策と実装の実情に基づき、GIS を用いて土地利用種・土地被覆・土地利用形態と各分類別のグリーンインフラ導入による雨水流出抑制効果についてシナリオ分析の比較を行った。グリーンインフラ形成シナリオとして施設型グリーンインフラを分散して導入するタイプ、公有地にグリーンインフラを集中して導入するタイプ（緑化型グリーンインフラと施設型グリーンインフラ）の3種を設定した上で雨水流出量を求めた。

次に、上海市を対象にした研究では中国におけるスポンジシティ（透水性の高い都市づくり）の概念と政策・計画的展開を明らかにした上で、上海黄浦地区の2つの対象において基礎的な雨水流出抑制量を定量的に算出した。中国では降雨量や排水量などの環境データの公開度が低いいため、理論値である設計降雨強度を用いてグリーンインフラの導入検討を行うことが特徴である。2敷地における雨水流出量はそれぞれ 15.7 m<sup>3</sup>/sec, 10.7 m<sup>3</sup>/sec であり、横浜の敷地と単純比較はできないが高い雨水流出量を示した。

### (4) 中国の伝統的な水処理技術の実態調査

中国揚子江下流域の中国江蘇省無錫市恵山地域の水環境と庭園群にみられる伝統的な水処理技術について調べた。また 2023年3月に、中国上海交通大学との共同調査を遂行し、上海およびその周辺の水環境とグリーンインフラの実装事例を把握した。

## (5) 国内における伝統的な水処理技術

国内では横浜市の三溪園にもみられたことから、三溪園内の水系構造について把握するため、園内に存在する5つの水面について、中池を除く池の水源を雨水とする地点を聞き取り調査から特定し、水準測量により池底の標高を求め、貯水量を定量的に導いた。庭園の土地被覆分類（樹林地、草地・低木地、裸地、池水面、砂利面、舗装面、建築面）にもとづく雨水流出量を算出した。蓄雨機能の評価においては、水平投影面積と表面積の2つの観点から分析を行い、土地被覆区分ごとの蓄雨高を算出した。また、樹林地、草地・低木地(芝生)、裸地、砂利面の4区分において土壌を採土し、土地被覆区分ごとの浸入量を導いた。樹林地と草地・低木地(芝生)区分においては、樹林地は常緑広葉樹、落葉広葉樹、竹林及びササ類群落の3区分、草地・低木地(芝生)は、草地・低木地(芝生)、草地・低木地+針葉樹の2区分において採土を行った。

## (6) 都市域の植物の種数の確保

生物多様性の一つの指標として、緑地の面積の広狭の違いが植物の種数に及ぼす影響について、神奈川県横浜市西部、及びフィリピンマニラ市内の緑地を調査対象地として調べた。

## 7. 研究成果

初めに国内外の「グリーンインフラ」の用語の定義や範疇、関連用語について、海外協定校の共同研究者と共に整理した。グリーンインフラの用語には、水循環調節機能と生物多様性機能が主たる機能であることが明らかになった。これらの機能を把握するためには、植生や建築物など、新たな用途別の土地利用の被覆度に関する定量化（求積）を必要とし、UAVを用いた近赤外面像観測を実施して緑地における植生の定量化を試みた。その後、調査及び実験によって、土地や地形の違いによる水循環調節機能の試算、及び植物の種数の確保に必要な緑地面積について調べた。

### (1) グリーンインフラの範疇と定義

国内のグリーンインフラ政策・事業の実態について、関係省庁である国交省や環境省、基礎自治体の横浜市や仙台市、世田谷区のグリーンインフラの定義、戦略、計画について調べた。例えば横浜市におけるグリーンインフラの施策は「水循環再生」の観点に特化していた。下水道事業、農地整備事業、都市整備事業に具体的な施策展開が確認され、雨水浸透・貯留の施設整備による事業がグリーンインフラ事業としてあげられていた。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求められていた。

国外の中、国土が広く気候風土が多岐に渡る中国では、グリーンインフラに関して地域によってそれぞれ異なる着眼点を持っていた。南部の深圳や広州では雨水の排出、北部の北京や天津では内水氾濫、長江流域の上流では貯水と水循環が重要視されていた。また、グリーンインフラの事例を複数の県域にまたがる国スケール、都市単位の都市スケール、都市内の特定の地区に存在する街区スケール/敷地スケールに分けると、中国の特徴は、①国策として広範囲の水問題を解決するための国スケールの事例があること、②都市スケールの事例では、「海綿都市」として内水氾濫とあわせて水の確保を目的とすること、③街区スケールや敷地スケールは、不動産開発に関わってグリーンインフラの用語が使われる事例が多いことが挙げられた。また植生の退行とゴルフ場の開発により水環境が悪化した北京永定河流域の生態修復、大運河→恵山→太湖の水体を繋ぐ江蘇省無錫市恵山地域の庭園群などの事例を報告した。フィリピンにおいては、グリーンインフラに関する法制度や計画を十分に調べ上げることはできなかった。これは法整備や施策が不十分であるためなのか、今回の調査が不十分であるのか不明な点があり再検討を要した。国内外の都市域におけるグリーンインフラの実装に関して、著書 *Towards Holistic Urban Green*



Infrastructure Implementation にその一部を公表した。

## (2) 土地情報の定量化

対象地に横浜市金沢区にある称名寺庭園（沿岸付近に位置する）、および瀬谷市民の森（横浜市の内陸に位置する）を選定し、UAV を用いた空撮による緑地の土地情報について分析した。調査の際、UAV には近赤外カメラ（Yubaflex）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 を算出することで、植生の活性度の定量的な把握を可能とした。また、両対象地においてはいずれの指標もほぼ同程度の成果が得られ、沿岸付近と内陸の緑地における定量化の指標の差異は少ないことが認められた。

## (3) 都市域の水循環調節機能の試算と展開

横浜市大岡川上流域の2つの小流域を対象に、現状の土地利用、土地被覆、土地利用形態の3つの観点で面積の測定を行い、現状の雨水流出量およびグリーンインフラ導入のポテンシャルを把握した。また施設型グリーンインフラ分散導入シナリオ、公有地集中導入シナリオの2つのシナリオの手法におけるグリーンインフラ導入後の雨水流出量の変化から雨水流出抑制効果を検証した。その結果、小流域スケールにおける各土地利用種別の導入効果を定量的に示すことができた。土地利用レベルでは大まかな量的な目標を示し、土地被覆レベルでは緑被など土地被覆別のグリーンインフラ導入効果を示すことができるが、主体や実現性などを示すことが難しい。一方で、土地利用形態レベルでは緻密で具体的な事業（緑化事業や下水事業など）や導入効果を示すことができ、対象自治体におけるグリーンインフラの導入を検討する上で実用性の高い手法であることを明らかにした。

## (4) 中国の伝統的な水処理技術の実態調査

中国江蘇省無錫市惠山地域の水環境と庭園群について、揚子江の氾濫と地形との関係や伝統的な水処理技術について調べた結果、揚子江下流域では重なる氾濫に対応できるように堀川を多数掘り、盛土をつくる技術がみられた。また上海およびその周辺の水環境とグリーンインフラの実装事例を調べた結果、上海では、近年の水辺公園の事例と水システムに関する新しい政策、都心部に雨が浸透しやすい街区公園の点在、かつての空港滑走路における雨庭の整備事例、海沿いの新興地域におけるグリーンインフラ技術が実用された広大な公園事例を確認した。無錫では、山の水が湖に流入するまでの都市部で複数の湿地公園が建設されていた。そこでは、護岸に地域の植物と河原石を使用することで、洪水時に土の浸食を防ぎ、貯水機能を高め、栄養物を残し、生物多様性を向上させる役割を果たしていた。また、山麓部の伝統的町並みと文化財庭園では、伝統技術を使った現存する水システムを確認した。

## (5) 国内における伝統的な水処理技術

国内の沿岸域にある三溪園を事例として、現存する5つの池水面に関わる水源や排水など、水系構造、池の貯水力、土地利用構成を調べた結果、三溪園内には湧水地点が4ヶ所あり、そのうち1ヶ所は、水の流れが確認できなかった。水の流れが確認できた湧水地点は、白雲邸裏の角地にある湧水、降雨時に若干の水が湧き出る天授院裏であった。また天授院横からの水流にかかる橋下から、降雨時に水が湧き出すことを確認した。旧矢筈原家住宅付近では水源が確認できたが、調査時は水の流れがなかった。4ヶ所の湧水は、池の水源としては利用されておらず、中池以外の池は、雨水により水量を維持していた。

庭園内の水系設備として、埋設水路、水の循環系統、排水系統、池の標高・水深についてヒアリング調査を行った結果、大池は、蓮池、睡蓮池、中池と地中で繋がっていたことを明らかにした。具体的には、①大池と蓮池は、大池側に内径300~500mm程の連通管により繋がっており、普段は閉じられているが降雨時に開けられること、②大池と睡蓮池は、地中の連通管で繋がっているが、平常時は土嚢が詰められていること、③大池と中池は、地中に連通管があるが、現在は繋がっていないこと、④蓮池と睡

蓮池は、以前は地中で繋がっていたが、現在は埋まっている。しかし、流れを確認できることもあること、⑤待春軒前の橋下、寒霞橋がかかる流れの先にバルブが確認できたこと、また内苑遊歩道（季節公開）を登った先にもバルブがあること、⑥基本的に三溪園の内苑は、三溪の時代からポンプによる水の循環をしていること、⑦八つ橋近くには循環ポンプがあり、外苑の滝まで水を送り出していること、⑧その付近にはポンプ1台が入った水槽が確認できたこと、⑧蓮華院近くにはポンプ小屋があり、天授院横の流れまで水を送ることを確認した。

三溪園の排水は、基本的に建物では外へ、園路は池へ排水していた。中池は本牧市民公園方面へ排水し、蓮池は道路の本管を通し排水されていた。臨春閣前の池には管口があり、臨春閣裏の陶管を両方向からの水が流れ、臨春閣下を通り池へ排水していた。

標高・池水深は、大池の水深は、深いところで1m程度であり、大池と睡蓮池の標高は殆ど同じであった。睡蓮池は当初から水深を深めに設定されていた。また、蓮池の水面標高が一低く、造営当初から10～15cm程に水深が低く設定されていた。

庭園内の5つの池水面（大池・蓮池・睡蓮池・中池・臨春閣園池）の水準測量を実施した。合計測量箇所は、大池：29箇所、蓮池：13箇所、睡蓮池：12箇所、中池：14箇所、臨春閣園池：12箇所である。5つの池泉の貯水量は、合計11,389 m<sup>3</sup>であり、この値は、1時間当たり約60mmに相当する降雨量を池泉に留めていることが分かった。

雨水流出量は、土地被覆区分ごとに合理式をもとに算出を行った。雨水流出量は合計で32,540(m<sup>3</sup>/sec)であった。三溪園の敷地全体が都市（舗装面流出係数:0.85）と仮定して雨水流出量を算出した場合64,680(m<sup>3</sup>/sec)であり、現状の三溪園の流出量と比較すると32,141(m<sup>3</sup>/sec)の差がある。以上から、日本庭園は都市部と比べ流出量を1/2程度抑制することが分かった。

三溪園を水平投影面積と表面積として捉えた場合の総面積は、水平投影面積は178,955 m<sup>2</sup>、表面積は189,946 m<sup>2</sup>であったが、蓄雨高は同程度の値を示した。しかし、現状の三溪園は74mm程度の豪雨対策に相当する性能があり、グリーンインフラとして高い性能があると推測できた。

三溪園内の樹林地、草地・低木地（芝生）、裸地、砂利面の4区分において土壌を採土した。採土した土壌サンプルは、定水位法による土壌透水試験を行い、土地被覆区分ごとの浸入量を導いた。算出した浸入量を土地被覆区分ごとに実測値と理論値と比較した。樹林地は実測値：914.29 m<sup>3</sup>/hr、理論値：769.15 m<sup>3</sup>/hrであり、差は145.14 m<sup>3</sup>/hrであった。草地・低木地（芝生）は実測値：304.81 m<sup>3</sup>/hr、理論値：147.32 m<sup>3</sup>/hrであり、差は157.49 m<sup>3</sup>/hrであった。裸地は実測値：9.70 m<sup>3</sup>/hr、理論値：1.7 m<sup>3</sup>/hrであり、差は8.00 m<sup>3</sup>/hrであった。砂利面は実測値：76.96 m<sup>3</sup>/hr、理論値：14.15 m<sup>3</sup>/hrであり、差は62.81 m<sup>3</sup>/hrであった。このことから、三溪園の樹林地、草地・低木地（芝生）、裸地、砂利面の4区分において、全ての土地被覆区分で理論値よりも実測値は高い値を示した。三溪園は一般的な土地と比較して透水性が高いと考えられた。

#### (6) 都市域の生物多様性機能

グリーンインフラによる大きな効果の一つである植物の種数の確保について、神奈川県横浜市大岡川流域の緑地を事例として、面積を求め、木本植物、草本植物の種組成を明らかにした。緑地面積については公簿敷地面積、樹冠投影面積、土壌地面積を求め、その測定方法について論じた。木本植物の高木、低木、ツル植物の緑地における意義、草本植物の一年草と多年草の割合、在来植物と外来植物の割合の違いと面積との関係を明らかにし、東京都とほぼ同じ面積のフィリピンマニラ市の緑地との相違点を比較した。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

### (1) グリーンインフラ計画・政策へのフィードバック

各都市において、少なからずグリーンインフラに資する計画や戦略は存在するため、本研究で得られた知見を自治体における計画・政策策定に向けて発信することが考えられる。特に、本学と協定を結ぶ横浜市環境創造局はグリーンインフラの推進母体であり、初年度の大岡川流域におけるグリーンインフラ測定は庁内のグリーンインフラ担当者と意見交換を行って進めてきた。横浜市とは双方向的にグリーンインフラに関して協働できる体制が整っており、引き続き社会実装に役立つ研究を目指す。

### (2) 研究シーズとしての将来性

造園学を核にしつつ、都市計画学、森林科学、土壌学、水文学などの他領域を横断した研究の展開が可能である。アジア各国では気候変動による水災害等の頻発が今後も予測されており、質の高いデータや研究成果だけでなく、それらを現地の状況に合わせて応用することが求められている。本研究で得られたグリーンインフラの枠組みや測定手法、伝統的な水処理技術をアジア・モンスーン気候の都市において展開することで、多領域の研究者が参画可能な研究シーズとなることが予測される。

### (3) 社会的波及効果

アジア地域の気候に適応した持続可能な都市や地域づくりに貢献する。欧州や北米での関連研究や実践が先行しており、その成果も多いが、アジア・モンスーン地域におけるグリーンインフラに関する成果は少なく、アジアに位置する本学での成果の社会的波及効果が望まれる。さらに海外協定校のパートナーシップに基づく枠組み研究に取り組むことで、関係する教員や学生の協働体制の構築や教育的効果なども期待できる。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究で示唆した国際的なグリーンインフラの主要目的である水循環調節機能と生物多様性機能の確保の2つの視点に基づき、①主要都市の緑地の植生構造の特徴を調べると共に、②技術的課題について深く検証しなければならない。またグリーンインフラにある水循環調節機能と生物多様性機能の他の機能についてもより幅広く検証し、複合的な効果（重ねの効果）について考える必要がある。

技術的な課題としては、例えば、都市における樹木の分布と水条件の関係や、洪水調節機能としての地形の整備、伝統的な水害防備林の技術、伝統的なたたき技術に関する水量調節機能と生物多様性の確保などがあげられる。

## 10. 公表した成果一覧

### 著書

- 1) 鈴木貢次郎 (2022) 造園大百科事典 亀山章総編集). 木本, 草本, 藤本 (籐本)・つる植物, 気候帯・小気候と郷土植物. 326-331, 356-357.
- 2) Takanori Fukuoka (2022): Towards Holistic Urban Green Infrastructure Implementation (Urban and City Ecosystem), Green Infrastructure and Climate Change Adaptation Function, Implementation and Governance (Ed.Futoshi Nakamura), Springer , 239-256

### 学術論文

- 1) Ryuki Tachikawa, Yoichi Kunii(2022) : Comprehensive quantitative understanding of the landscape using TLS

point cloud data, Int. Arch. Photogramm. Remote Sens. Spatial Inf. Sci. XLIII(B2), pp.297-302

- 2) 古賀大誠, 根岸尚代, 國井洋一 (2022) TLS 点群データを用いた戦災樹木に対する焼焦げの定量化手法と被災推定への応用, 日本測量協会応用測量論文集(33), pp.47-56
- 3) Norma G. Medina, Kojiro Suzuki, and Satoru Tanaka (2023) Response of native plant, *Ardisia pyramidalis* (Cav.) Pers. to alkaline soil condition for use in urban landscape in Manila City, Metro Manila, Philippines. Jour. Agri. Sci., Tokyo Nogyo Daigaku. Jan. 20, 2023
- 4) Nanako Killmann, Norma G. Medina, Kako Matsunaga, Kojiro Suzuki, and Satoru Tanaka (2022) Relationship between the greenspace area and number of plant species in the urban area of Yokohama, Japan. Eco-Habitat 28, vol.1,5-18.
- 5) Nanako Killmann, Fumitaka Nishino, Kojiro Suzuki and Ian D. Rotherham (2022) Characteristics of urban greenspaces based on analysis of woody plants in Yokohama City, Japan. Landscape and Ecological Engineering Volume 18, issue 2. 221 – 238. doi.org/10.1007/s11355-021-00493-4

#### 学会発表

- 1) 尹静一・福岡孝則・李玉紅ほか(2022)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—上海黄浦地区を例として—, 日本造園学会関東支部大会事例・研究報告集, p.117

# 2022年度 海外協定校との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 下嶋 聖

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ネパール・ヒマラヤにおける気候変動及び生活様式の変化による災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価	2,160,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	下嶋 聖	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	研究統括・空間情報
研究分担者	武生 雅明	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	生態調査・生物多様性
	本田 尚正	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	地域防災・災害リスク評価
	橘 隆一	地域環境科学部 森林総合科学科・教授	森林水収支
	入江 満美	国際食料情報学部 国際農業開発学科・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・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

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の3年目）

## 4. 研究の背景（当初）

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

一方でヒマラヤは地球の第3の極とも表現され、環境変化を示す一種のバロメーターである。地球規模の気候変動に伴い、氷河の後退や融解により形成された氷河湖の崩壊による下流地域への災害が懸念されている。これまで雪氷学分野において、氷河タイプや氷河融解モデルなどが明らかにされてきた。ヒマラヤ氷河には、氷河表面が岩窟に覆われるD型氷河(Dirty Type)と覆われないC型氷河(Clean Type)がある。D型氷河は表面の岩屑の存在が融解抑制しているとの指摘がされている(森林,1974)。近年では、多時期の衛星画像を用いた氷河表面の岩窟分布特性を明らかにした研究やUAV(ドローン)空撮に

よる氷河動態の把握を試みた研究がある (Immerzeel, W.W.et. al., 2014)。氷河挙動の解明に向け、降水量から氷河の物質収支を把握した研究もある (Wagnon, P.et. al., 2013)。このようにリモートセンシングを用いた広域スケールにおける氷河動態と気候変動の応答性については明らかにされつつある。

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

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

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

## 5. 研究目的

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

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

ヒマラヤは地球の第3の極とも表現され、環境変化を示す一種のバロメーターである。造山運動により溪谷の浸食が進行することで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・ジウムラ及びムグ地方）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。

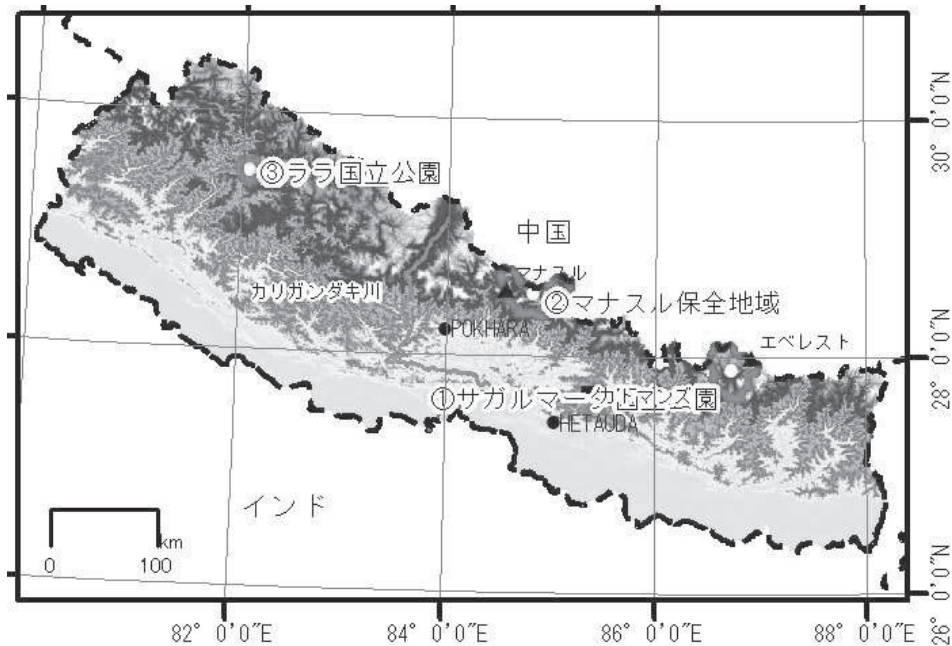


図1 本研究の対象地

### 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。

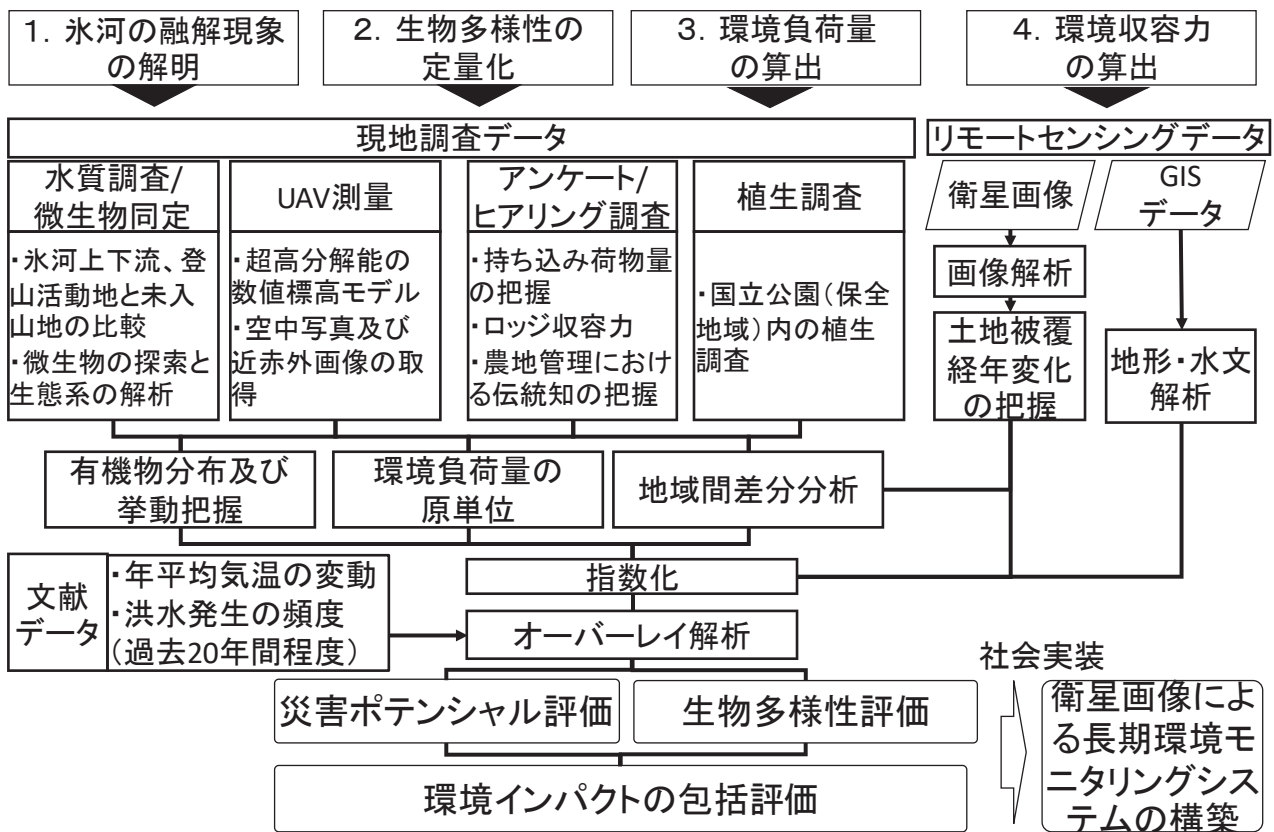


図 2 研究フロー

## 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、コロナ禍の深刻期であった一昨年度（2020）及び昨年度（2021）に比べ、当該研究の対象地であるネパールへの渡航が可能となったが、学内における渡航許可のタイミングが、適切なサンプリング時期と重ねることができず、当該内容に関する現地調査を実施することができなかつたため、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。



なお、本年度は4/26から5/7までネパールへ渡航し、水質調査のサンプルに対するネパール国内での分析環境の実態について情報収集を行った。これは現地ネパールにて水質調査を実施した場合、そのサンプルは遺伝子資源のひとつであり、当該国からの持ち出す場合はABS（Access and benefit sharing：遺伝資源の利用から生ずる利益の公正で衡平な配分）に関する手続きが必要になる。現在、ネパール政府側における許可取得に関する法令・手続き等が十分に定まっておらず、手続き申請には多くの困難が生じることが予想される。現実的にはネパール国内にて分析を行った方が合理的なため、現況把握を行った。

まず本プロジェクトの海外協定校・カウンターパートナーであるネパール農林大学に訪問し、水質分析及びバイオサイエンス関係の部局にあたる、動物獣医科学及び水産学部とバイオテクノロジーセンターを訪問した（ランプール、チトワン）（写真1）。分析環境としては、一通り水質調査に関する分析機器は備わっているものの、常時分析が行えるかは不明な点があることと、ネパール国内にて各対象地（エベレスト及びマナスルエリア）からAFUのキャンパスがあるランプール（チトワン）までサンプルを運搬するには遠隔地（主に陸路での輸送）であるため、迅速な分析が実施できない可能性がある。

次に、首都カトマンズにおける水質検査を請け負う業者の有無について、本研究の研究協力者の一人であるHRF（Himalaya Resource Fandation）のDr.Denesh Raj Bhuju氏に確認したところNESS(Nepal Environmental and Scientific Services：ネパール環境科学サービス株式会社<<http://nesspltd.com/company/>>)の情報提供を受けた。NESSは日本とネパールが合同で出資して設立した環境コンサルティングの企業であり、水、大気汚染、土壌、食品にいたる分析や環境モニタリングの技術を提供している。実際に当該地でサンプルを採取した際は、分析依頼先として有力な候補であることが確認できた（図3）。



写真1 右から大西章博先生(醸造科学科), Dr. Rebanta Kr. Bhattarai氏 (Associate Professor, Department of Veterinary Microbiology and Parasitology, Faculty of Animal Science Veterinary Science and Fisheries, AFU), Dr. Balram BHATTA氏 (Dean, Professor, Faculty of Forest, AFU), 染谷香里氏(地域創成科学専攻修士2年生)



図3 NESSのwebsite

写真1 ラボでのインタビューの様子

## 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

### ①トレッキングエリアにおけるロッジの収容力の把握

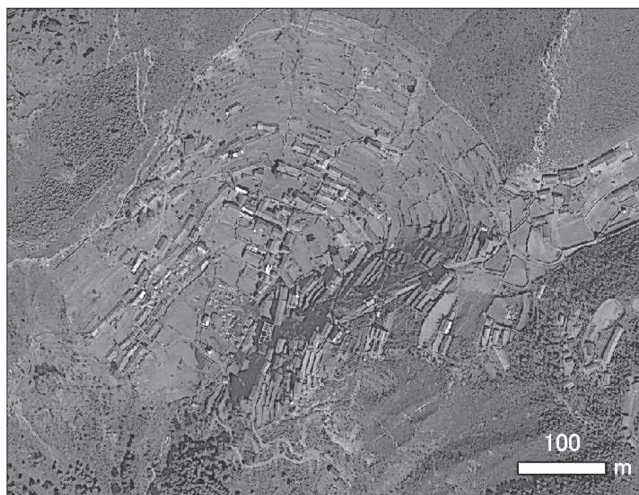
研究計画では、現地調査により調査対象地において植生調査及び地域住民・トレッキングコース上のロッジを対象にしたアンケート/ヒアリング調査)を実施する予定であった。しかしコロナ災禍のため現

地調査の実施はできなかつたため、エベレスト街道（サガルマータ国立公園）の中心地であるナムチェバザールを中心に、既存する高分解能衛星画像のアーカイブス検索と収集を行った。

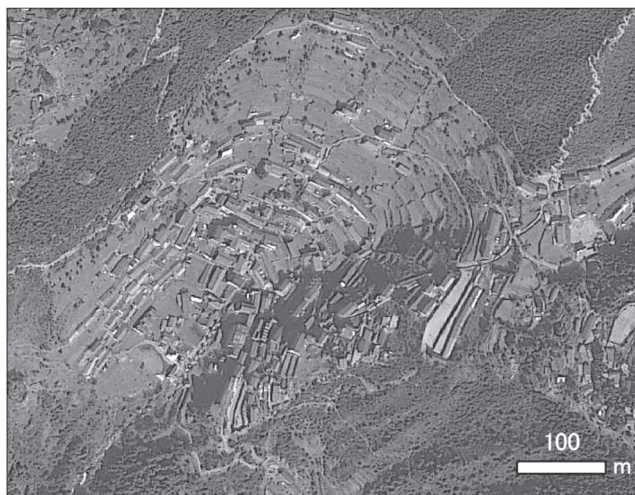
日本スペースイメージング社（JSI）が整備、提供している画像検索サービス ISS を用いて、本研究の対象地の一つであるサガルマータ国立公園内のナムチェバザール付近の画像検索を行った。商用ベースの高分解能衛星画像の撮影は 1999 年 9 月 24 日に打ち上げられた IKONOS（イコノス）に始まり、2000 年から画像のアーカイブが存在する。画像検索では 2000 年から 2021 年の 21 年間の毎時期において、大気が最も澄んでおり、晴天率が高い（画像上雲量率が低い）時期にあたる 9 月から翌年 4 月までの 8 ヶ月に絞り、検索を行った。その結果、トレッキングルート上に存在するロッジ等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

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

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



・2001 年 11 月 29 日撮影



・2020 年 12 月 11 日撮影

図 4 ナムチェバザール付近の可視画像(2 時期)

入手した画像のうち 2 シーン（2001 年 11 月 29 日撮影、及び 2020 年 12 月 11 日撮影）について、図 4 に示す。入手した画像は、マルチスペクトル画像とパンクロマティック画像を有する。両者は異なる解像度を持つため、高解像度画像であるパンシャープン画像を生成した。いずれも地上分解能が 1m 未満の解像度をもつため、馬蹄地形上に広がる建物等の地物の範読が可能である。コロナ災禍の制限下において現地調査のデータに依らず、リモートセンシングデータを用いた解析環境を整えることができた。

次に既存資料を基に、ナムチェバザールのロッジ数の変化について把握した。これをみると、2001 年は 20 軒を数える程度であったが、7 年後の 2009 年には 1.5 倍の 30 軒に増加し、16 年後の 2018 年は 2.5 倍の 50 軒に増加している。図 5 はサガルマータ国立公園の利用者数の推移を示したものである。これを見ると 2001 年の利用者数は 18,440 人であったが、2008 年は 31,201 人、2018 年は約 3 倍の 56,303 人

に急増している。国立公園の利用者数の増加に呼応する形でロッジ数も増加した傾向がわかる。

表2 ナムチェバザールのロッジ数の変化

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

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

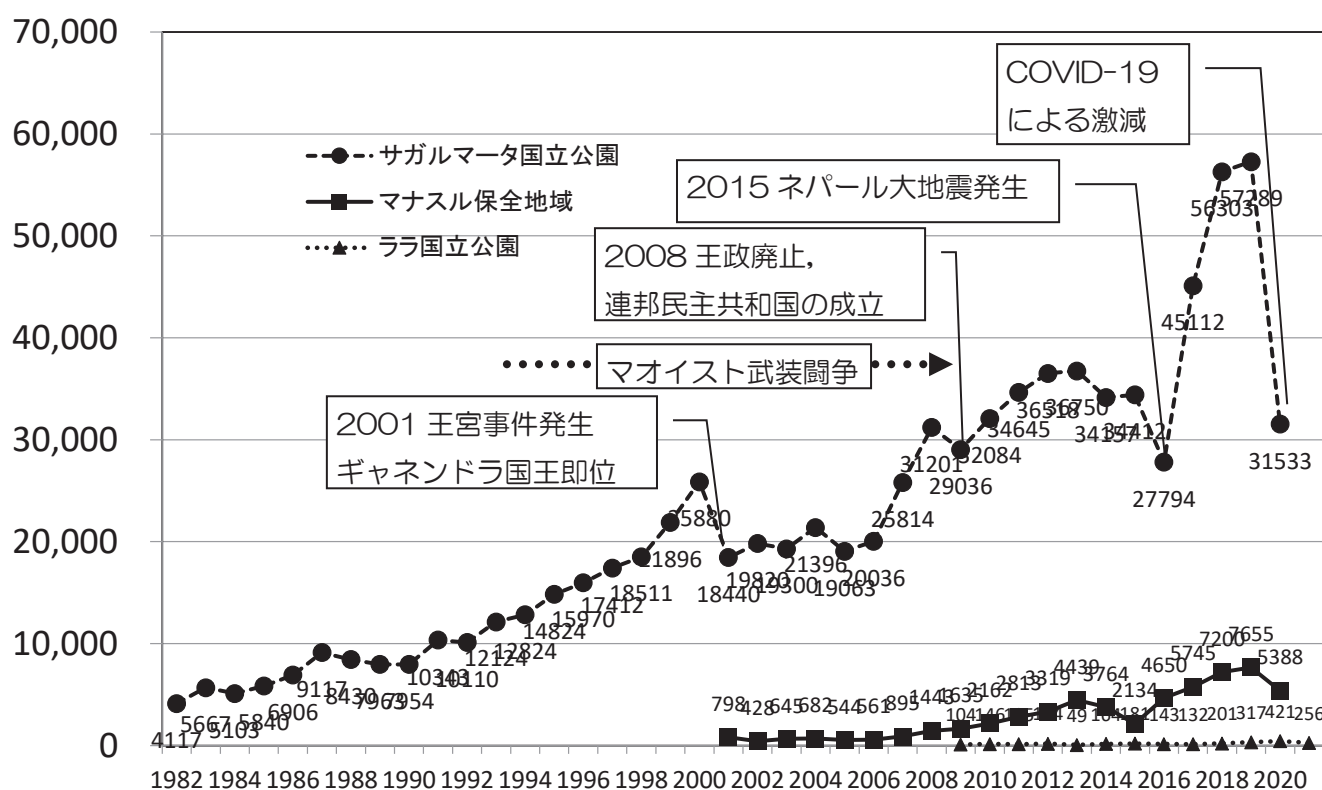


図5 サガルマータ国立公園、マナスル保全地域及びララ国立公園利用者数の推移

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

## ②農地管理における伝統知の把握

当初計画で予定していた対象地（エベレストエリア、マナスルエリア及びララ国立公園エリア）は、いずれも首都カトマンズから遠隔地であり、短期間での渡航の間で調査を実施することが困難であるため、本年度は4/26から5/7までネパールに渡航し、カトマンズ近郊のバグマティ州ヌワコット郡カカニ村を対象に、農地管理に関する実態調査を実施した。カカニ村は首都カトマンズから北西部に約20kmに位置する。カカニ村を対象とした理由は、1. カトマンズ近郊地で産業主体が農業であること、2. 1992年より公益財団法人日本農業研修場協力団（JAITI）によるイチゴ栽培の指導、支援協力が行われたこと、3. 2015年より日系企業によるイチゴ農家への販売契約、農業指導の事業及びカカニ村出身者を対象とした日本への技能実習生制度の実施地、であることから対象地として選出した。

カカニ村を含むヌワコット郡の人口は約 24 万人であり、自然環境としては温帯冬季少雨気候、照葉樹林帯にあたる。カカニ村は標高 1,500~2,000m に位置し、傾斜地形を有するため村内の農地は段々畑の景観を呈している。調査対象は日系企業と契約しているカカニ村内のイチゴ農家 115 戸とし、契約イチゴ農家に関して、現地調査を踏まえ、GIS を用いた立地環境解析及び主成分分析を用いた農地のタイプ分類を行った。加えて、契約イチゴ農家の栽培状況及び農家意向の把握を行うため、農家、契約農家管理者に対してアンケート及びインタビュー調査を実施した。また当該日系企業から、各契約農家のイチゴの収量データ（4 時期分：2019 年～2022 年）の提供を受け、立地環境及び栽培状況及び農家意向とイチゴの収量との関係について分析を行った。

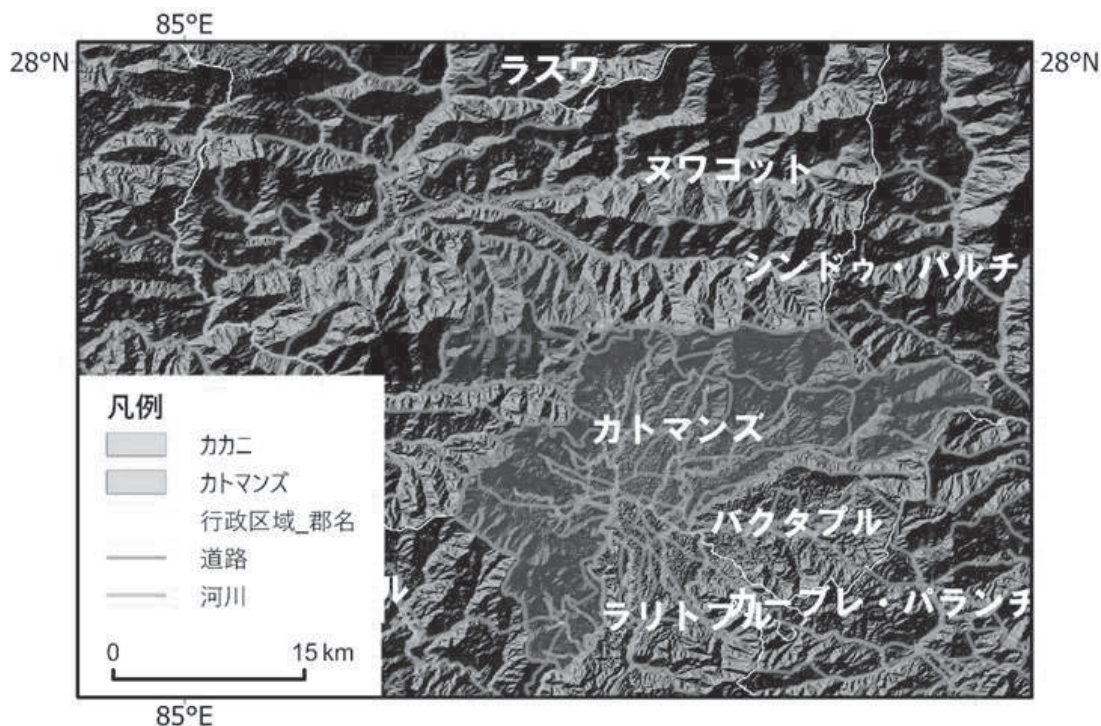


図 6 カカニ村の位置図



写真 2 カカニ村内のイチゴ農家の圃場風景

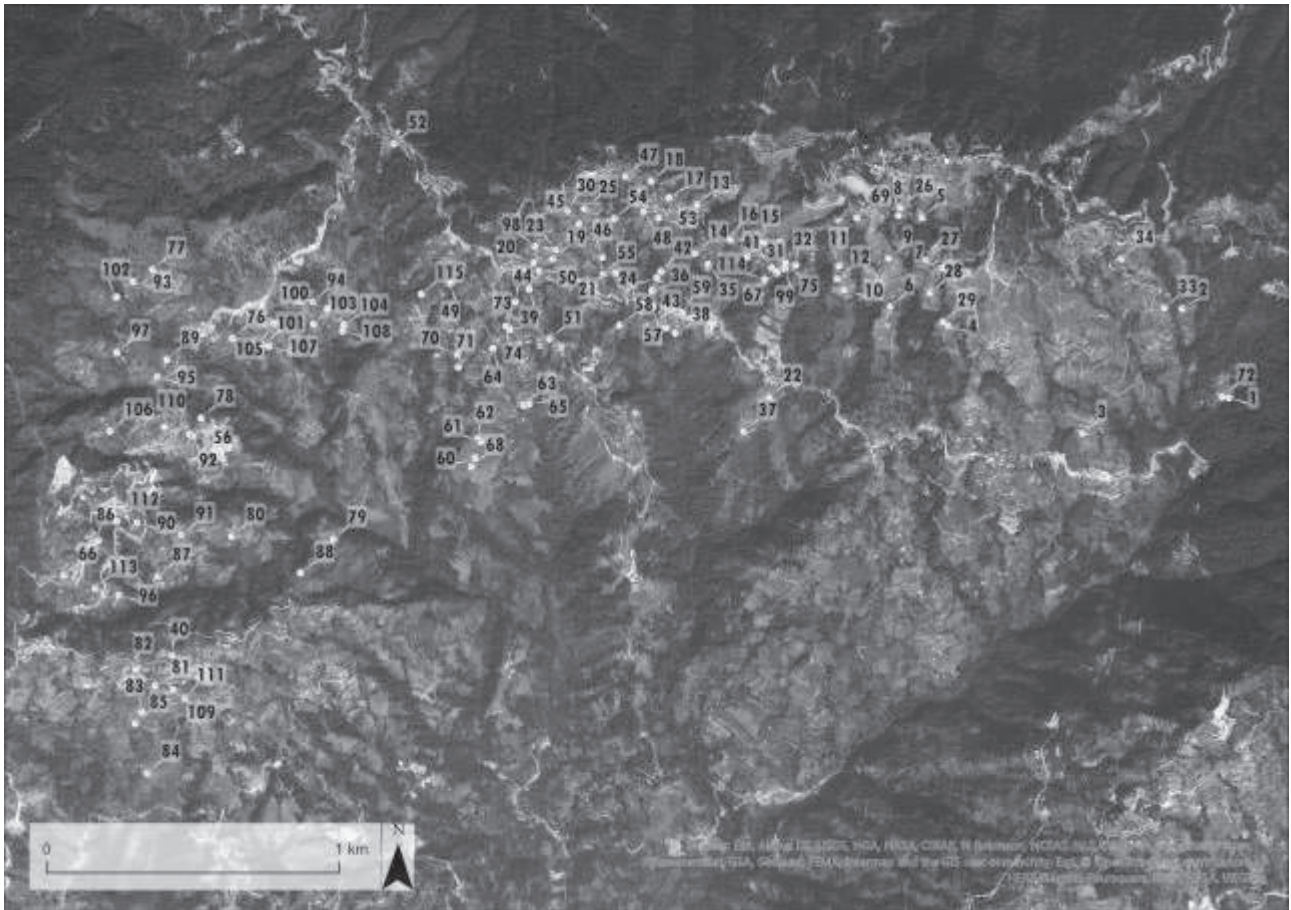


図7 カカニ村内の日系企業との契約イチゴ農家の位置図

1) 単位面積あたりのイチゴ収量と立地環境特性との関係について

契約イチゴ農家の立地環境（標高、傾斜角、斜面方位、日射量及び TWI（Topographic Wetness Index：地形的な湿潤指標））と収量（4 時期別）との関係について、Spearman の順位相関分析を行った結果、「斜面方位」及び「TWI」において 5%水準で収量と正の相関が見られた（表 3）。各契約イチゴ農家のイチゴ収量は、所有している農地の斜面方位と地形的な水の集まりやすさの違いにより、異なることが示唆された。

表 3 単位面積あたりのイチゴ収量と立地環境特性との Spearman の順位相関係数

立地特性 \ 単収	2019	2020	2021	2022
標高 (m)	-.074	-.158	-.032	-.017
傾斜角 (°)	.096	.138	.137	-.008
斜面方位 (°)	.259**	-.037	.164	.223*
日射量 (WH/m <sup>2</sup> )	-.058	-.112	-.029	-.079
TWI	.191*	.052	.157	.282**

\* : p<0.05 \*\* : p<0.01、日射量は各年度の定植日から収穫終了日までの全天日射量,2022 年度のみ現地調査日までの収量データ・全天日射量を使用

## 2) 主成分分析を用いた立地環境に基づくイチゴ農家の分類

立地環境別にカカニ村内の契約イチゴ農家の分類を行うため、契約イチゴ農家の農地に対する標高、傾斜角、斜面方位、日射量及びTWIの5変数を用いて主成分分析を行った。分析結果を表4及び図8に示す。第2主成分までの累積寄与率が66.9%であった。図8より各主成分の解釈をすると、第1主成分は、傾斜角を除く4つの変数は正の値にプロットされた。このことから農地の立地環境に対する総合評価の軸と名付けた。一方第2主成分は、正の値に「TWI」、「傾斜角」等がプロットされていることから地形的な排水性の高さを示す軸と名付けた。各契約イチゴ農家に対する、主成分スコアをプロットしたものが図9である。プロットの布置関係からタイプⅠ、タイプⅡ、タイプⅢ及びタイプⅣに分類した(表5)。タイプⅠの契約イチゴ農家の立地環境の特徴は、平均標高が比較的高く、農地の斜面方位は南向きでTWIの値が最も高い(湿潤度が高いすなわち水が集まりやすい)ことがいえる。タイプⅡの契約イチゴ農家の立地環境の特徴は、平均標高が最も高く、農地の斜面方位は南向きでTWI値が比較的高いことがいえる。タイプⅢの契約イチゴ農家の立地環境の特徴は、平均標高は比較的低く、農地の斜面方位は南東向きでTWI値は最も低いことがいえる。最後にタイプⅣの契約イチゴ農家の立地環境の特徴は、平均標高は最も低く、農地の斜面方位は南向きでTWI値は比較的高いことがいえる。このことからカカニ村において、イチゴ栽培に適地に立地する農家は、タイプⅠ、Ⅱ及びⅣであり、タイプⅢはどちらかといえば不適地に相当することが示唆された。

表4 固有値と寄与率

	第1主成分	第2主成分
	農地の立地環境に対する総合評価の軸	地形的な排水性の高さを示す軸
固有値	2.4	1.0
寄与率(%)	47.9	19.1
累積寄与率(%)	47.9	66.9



図8 因子負荷プロット

表5 各農地タイプの立地環境特性の平均値

タイプ	標高(m)	傾斜角(°)	斜面方位(°)	日射量(WH/m <sup>2</sup> )	TWI
Ⅰ	1866	17	199(南)	11.7 × 10 <sup>5</sup>	10.7
Ⅱ	1910	16	190(南)	12.7 × 10 <sup>5</sup>	9.1
Ⅲ	1760	23	142(南東)	8.6 × 10 <sup>5</sup>	8.2
Ⅳ	1674	25	165(南)	9.7 × 10 <sup>5</sup>	9.7

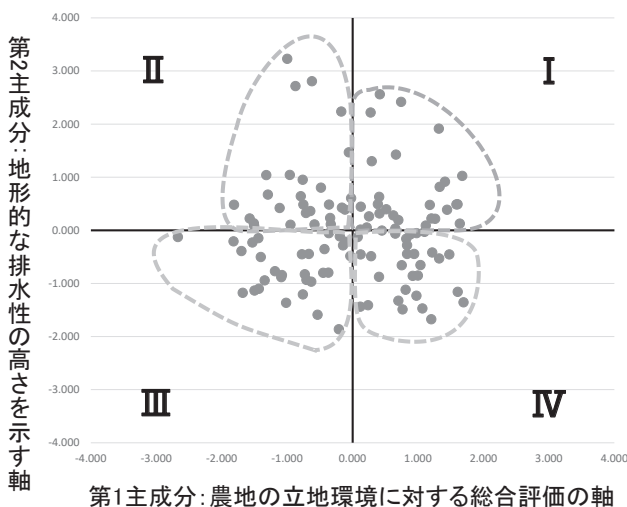


図9 主成分スコア散布図

### 3) 単位面積あたりのイチゴ収量と栽培状況及び農家意向との関係について

契約イチゴ農家の自身の農地の栽培状況や農家意向（農業に対する意欲等）との関係について、Spearman の順位相関分析を行った結果、設問項目全てにおいて、収量と正の相関が見られた（表6）。水や肥料が確保されており農地の手入れがなされている農家や栽培への意欲が高い農家は、収量が高いことが示唆された。

表6 単位面積あたり収量と栽培状況及び農業に対する意欲との Spearman の順位相関係数

項目		単収			
		2019	2020	2021	2022
栽培状況	水の十分な確保	-	-	0.007**	-
	肥料の十分な確保	-	-	0.093	-
	十分な手入れの実施	-	-	-	.349***
	病虫害の防除の実施	-	-	-	.290**
	連作障害対策の実施	-	-	-	.376***
農家意向	農作業への意欲	-	-	-	.362***
	品質向上への意欲	-	-	-	.317***
	栽培法の改善意欲	-	-	-	.293**

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001

### 4) 立地環境に基づくイチゴ農家の分類と資源・技能・意欲に関する評価

立地環境に基づくイチゴ農家の分類（4タイプ）と栽培状況及び農家意向との関係について Kruskal-Wallis 検定の結果、「農作業への意欲」以外の7項目で5%以下の水準で有意差がみられた（表7）。特に着目すべき点として、多重比較の結果、タイプⅢの農地（農家）については、いずれの質問項目においても他のタイプとの有意差が認められた。タイプⅢの農地環境は、前の主成分分析の結果から他のタイプに比べ比較的イチゴ栽培において不適地と示唆されており、他のタイプにくらべ不利な農地の条件であることと、タイプⅢにおける農家の農作業や品質向上、栽培法の改善意欲の低さとは関係性が高いことがいえる。

表7 農地タイプと資源・技能・意欲に関する評価の Kruskal-Wallis 検定

質問項目		タイプ				検定
		I	II	III	IV	
栽培状況	水の十分な確保	5.36	5.20	1.73	1.96	*** I III, I IV, II III, II IV
	肥料の十分な確保	5.61	5.47	1.73	1.96	*** I III, I IV, II III, II IV
	十分な手入れの実施	4.07	3.87	3.30	3.74	** I III
	病虫害の防除の実施	4.00	3.80	3.30	3.70	*** I III,* II III
	連作障害対策の実施	4.79	4.20	3.57	4.07	*** I III,* II III
農家意向	農作業への意欲	4.25	4.03	3.40	4.04	*** I III,* III IV
	品質向上への意欲	3.93	3.70	3.20	3.85	** I III,* III IV
	栽培法の改善意欲	4.00	3.90	3.43	3.74	** I III,* II III

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001

最後にカカニ村における契約イチゴ農家の立地環境、栽培状況及び農家意向に関して得られた実態、今後イチゴ栽培を継続すると生じる課題及びイチゴ収量の増加や改善に向けて修得すべき技能について、契約イチゴ農家のタイプ別に整理した(表8)。前述の通り、タイプⅢの農家に対して、特にイチゴ収量の改善策が指摘できる。立地環境がそもそも他の3タイプに比べ、条件が不利であることと、斜面方位の位置関係から相対的に日照時間の短さが指摘できる。この改善策としては、カカニ村では露地栽培が多く占める中、ハウス栽培への移行もしくは併用等も視野に入れることが望まれる。また地形的な特徴より水不足が指摘されることから、灌水方法についても確保できる技術、手立ての確立が必要である。次に栽培状況について、水不足に加え肥料不足や手入れ不足が指摘されていることから、作物の生育不良、品質低下を招く恐れがある。この改善策としては、灌水、施肥、手入れ方法の技術習得ないし改善が求められる。最後に農家自身の移行について、全般的に農作業、品質向上及び栽培法の改善に対して意欲が低い。このことから、低収量、低品質につながっている。この改善策として、農業経営に対する知識や生産知識のリスキング機会創出や継続的な技術指導のケアなどのサポート体制の構築が挙げられる。以上のことから、日本と異なる立地環境の農地に対して適用可能な農業技術を具体化し、その地域(農家、農地)間差を可視化することができた。

表8 立地環境・栽培状況・農家意向に関する課題整理

タイプ	立地環境			栽培状況			農家意向		
	実態	想定される課題	修得すべき技能	実態	想定される課題	修得すべき技能	実態	想定される課題	修得すべき技能
I	—	—	—	—	—	—	—	—	—
II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
III	・南東向き斜面 ・地形的な集水性の低さ	・日照時間の短さ ・水不足	・ハウス栽培 ・作付転換 ・灌水方法	★水不足 ★肥料不足 ・手入れ不足 ・病虫害防除の不徹底 ・連作障害の対策不足	★生育不良 ★収量低下 ・品質低下 ・病虫害 ・連作障害	★灌水方法 ★施肥 ・手入れ方法 ・病虫害防除 ・土壌消毒 ・施肥	・農作業意欲低 ・品質向上意欲低 ・栽培法の改善意欲低	・低収量 ・低品質 ・品質低下	・経営知識 ・生産知識
IV	—	—	—	★	★	★	—	—	—

註：表中の●★は、内容が同じことを示す。



### 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ス検索と収集を行い、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 10）。

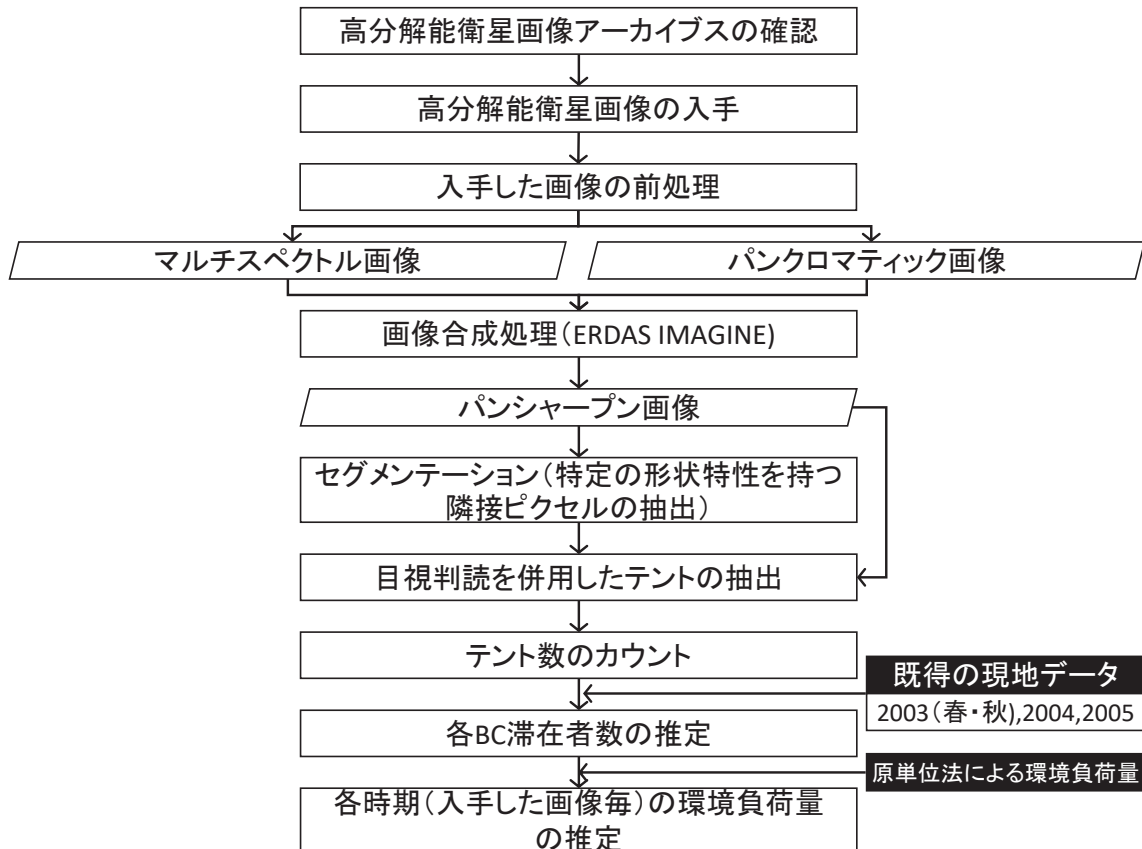


図 10 高分解能衛星画像を用いた画像解析フロー

#### ① 高分解能衛星画像アーカイブスの確認及び入手

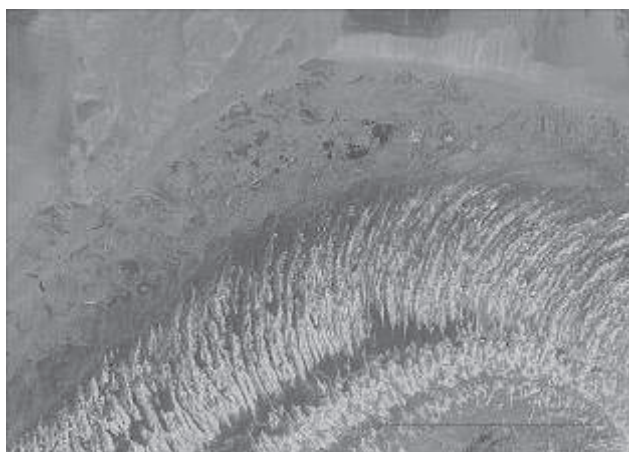
日本スペースイメージング社（JSI）が整備、提供している画像検索サービス ISS を用いて、本研究の対象地であるサガルマータ国立公園内のエベレスト・ベースキャンプ付近及びマナスル保全地域内のマナスル・ベースキャンプ付近の画像検索を行った。商用ベースの高分解能衛星画像の撮影は 1999 年 9 月 24 日に打ち上げられた IKONOS（イコノス）に始まり、2000 年から画像のアーカイブが存在する。画像検索では 2000 年から 2020 年の 20 年間の毎時期において、エベレスト・ベースキャンプについてはエベレスト登山の入山期にあたる 4 月及び 5 月の二ヶ月間に絞り、マナスル・ベースキ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（表 9）、マナスル・ベースキャンプにおいては 1 シーンであった（表 10）。

表 9 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)

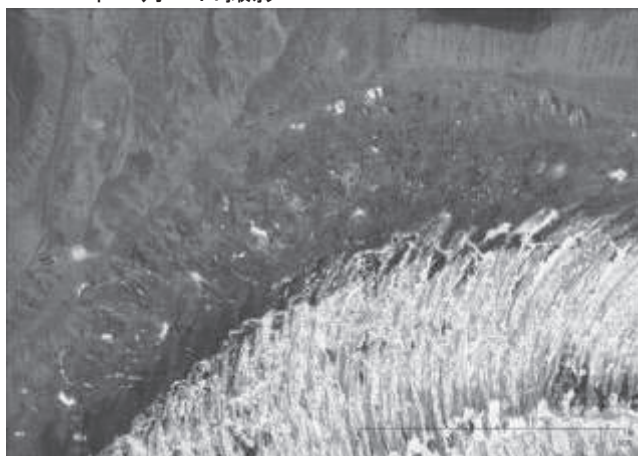
撮影日	衛星種別	オフナディア角 (度)	撮影仰角 (度)	撮影方位角 (度)	雲量率(%)	パナクロセンサ 解像度(m)	所有 有無
1 2016/05/14	WorldView-2	10	79	297.828	3	0.475	有
2 2015/05/08	GeoEye-1	42	42	322.381	0	0.74	無
3 2014/4/26	QuickBird	29	59	256.89	0	0.678	無
4 2013/05/23	GeoEye-1	7	82	33.017	11	0.418	有
5 2009/5/24	GeoEye-1	ND	74	273	31	0.5	有
6 2007/5/23	IKONOS	12	77	50.041	0	0.8	有
7 2003/05/07	QuickBird	26	62	358.156	3	0.736	有



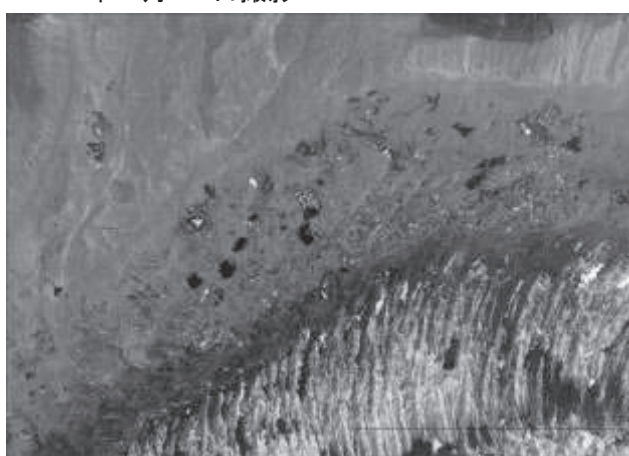
・2003年5月7日撮影



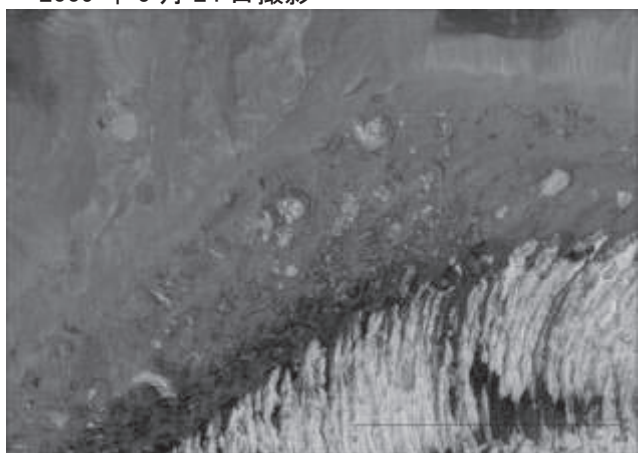
・2007年5月23日撮影



・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 11 エベレスト・ベースキャンプ付近の可視画像(5 時期)

表 10 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

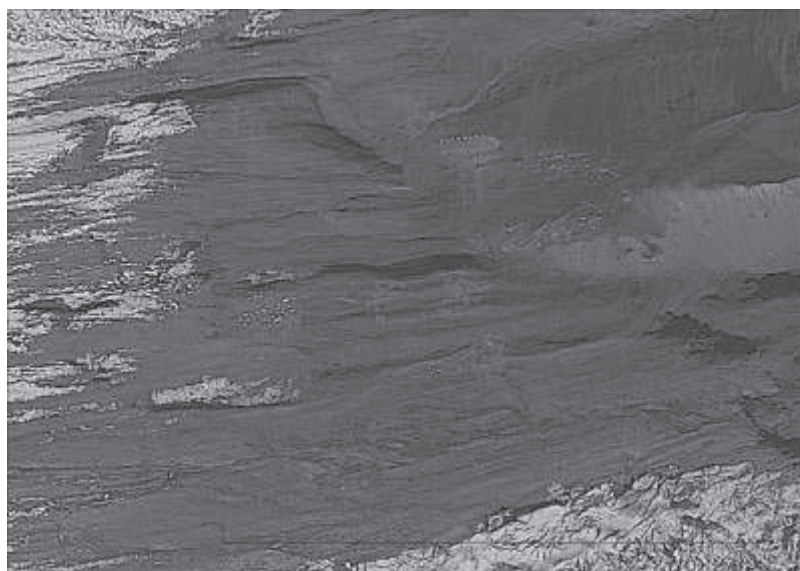


図 12 マナスル・ベースキャンプ付近の可視画像(1 時期)

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 11 及び図 12)。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 13 から図 17 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。

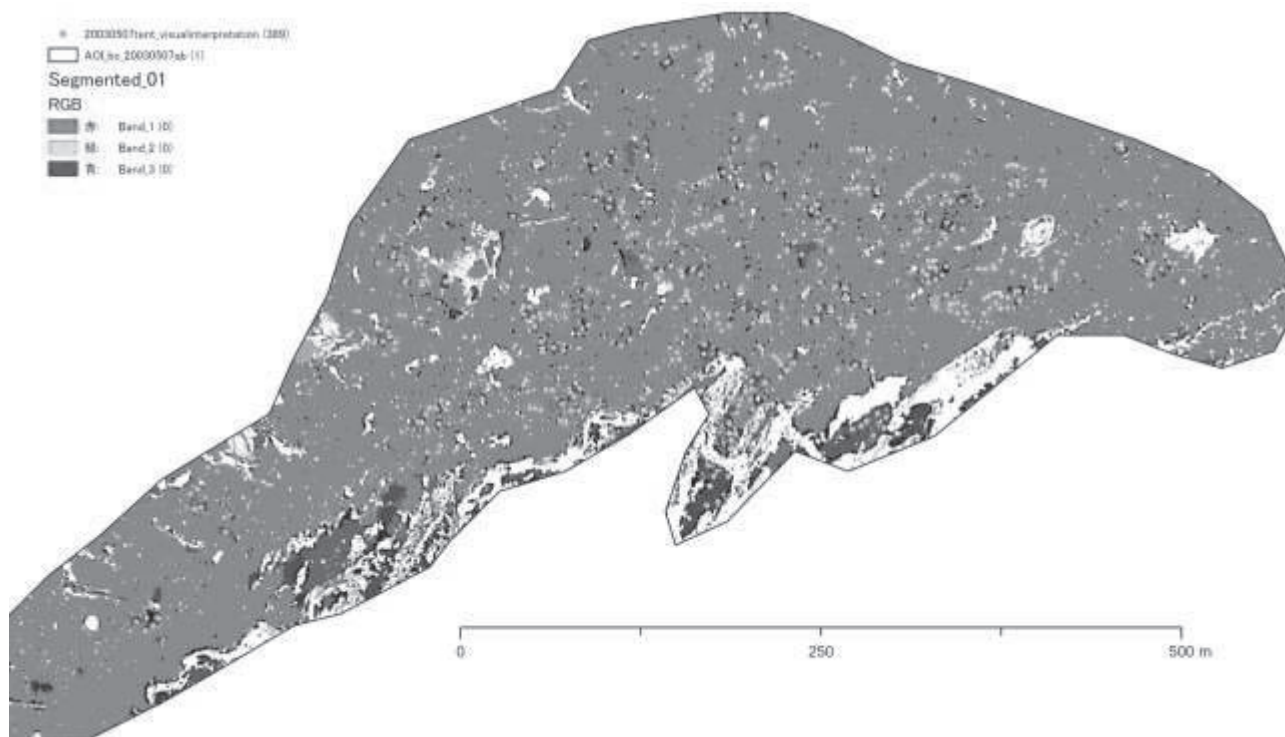


図 13 2003 年 5 月 7 日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

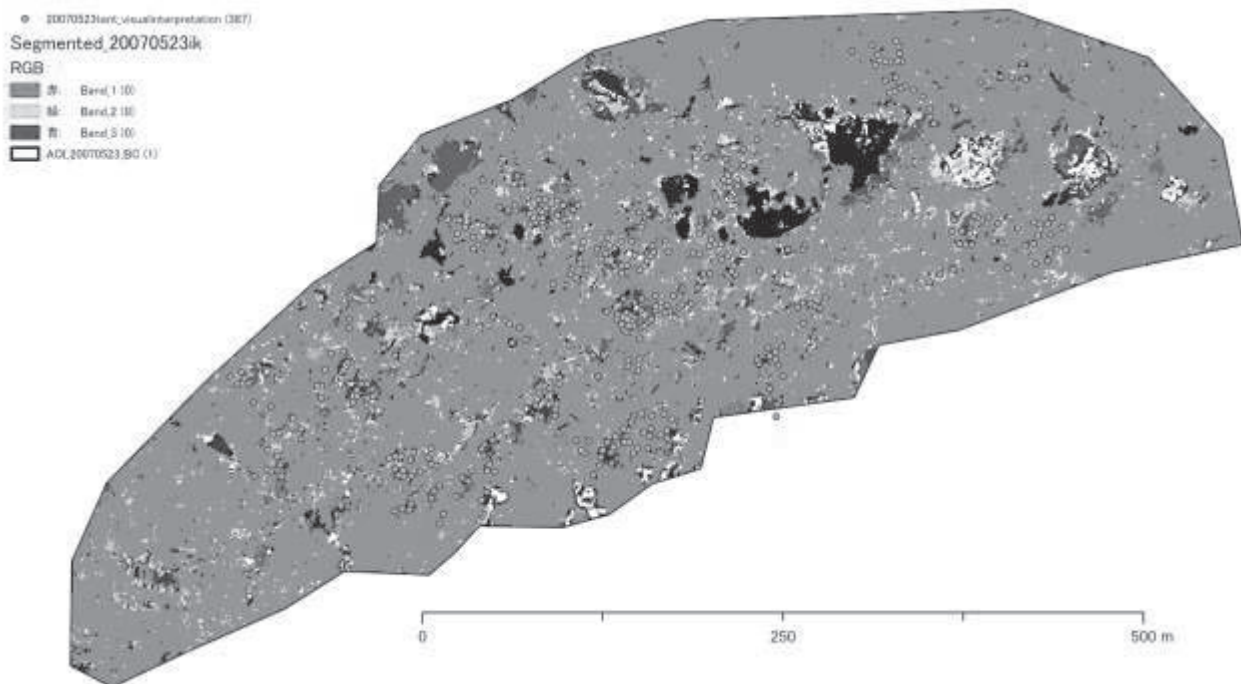


図 14 2007 年 5 月 23 日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

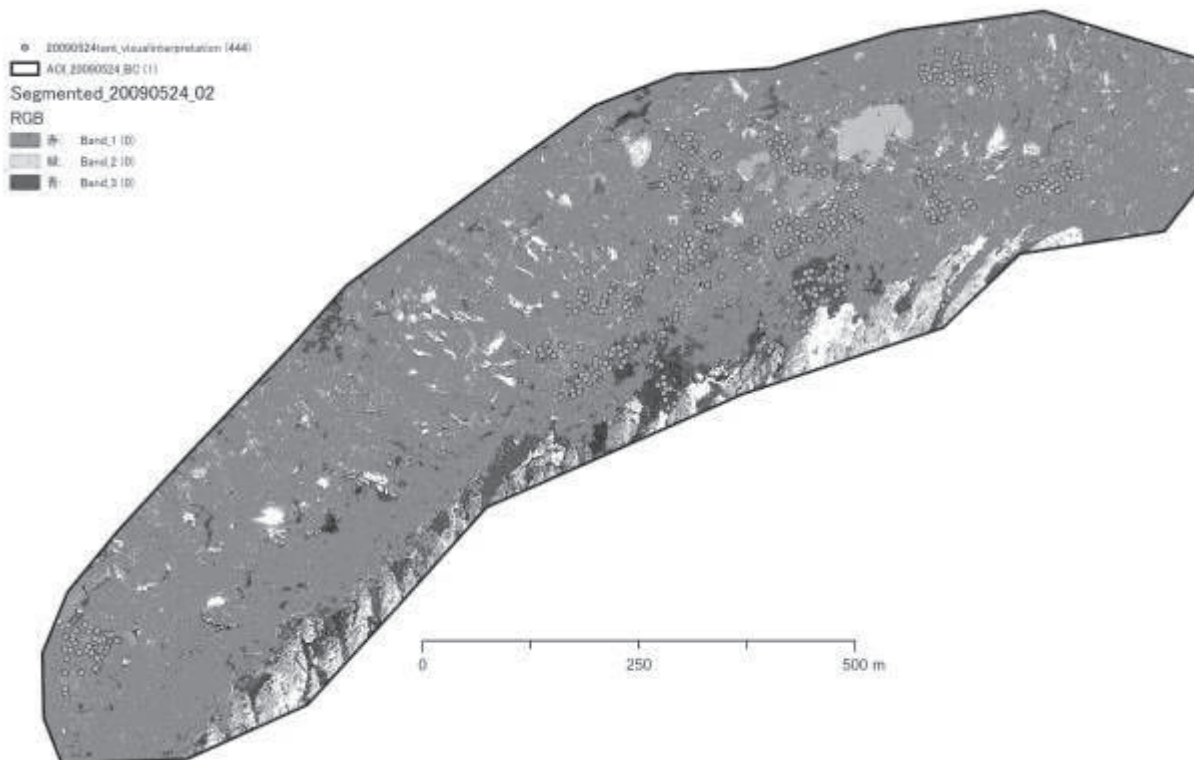


図 15 2009 年 5 月 24 日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

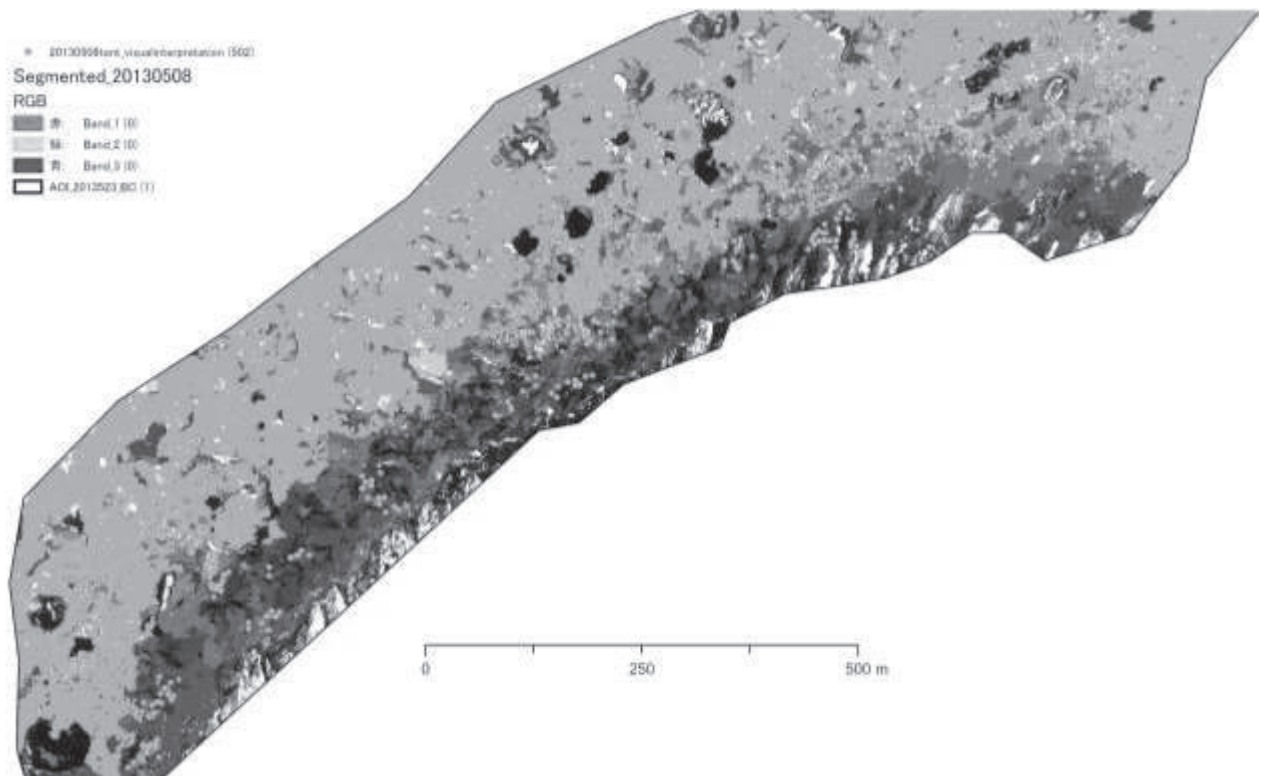


図 16 2013 年 5 月 23 日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

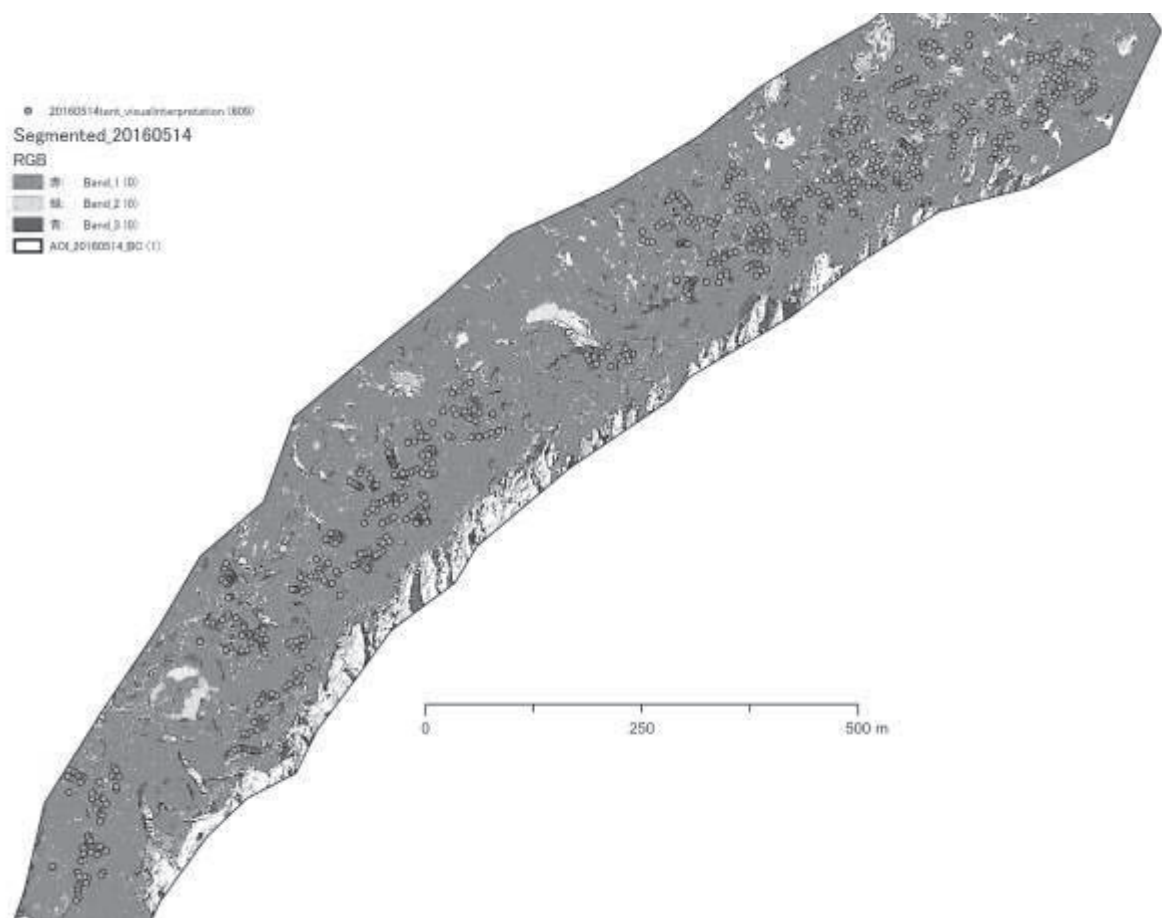


図 17 2016 年 5 月 14 日撮影 セグメンテーション画像及び目視判読より抽出されたテント数

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 18)。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）。このことから少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18 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11）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19）。

表 11 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

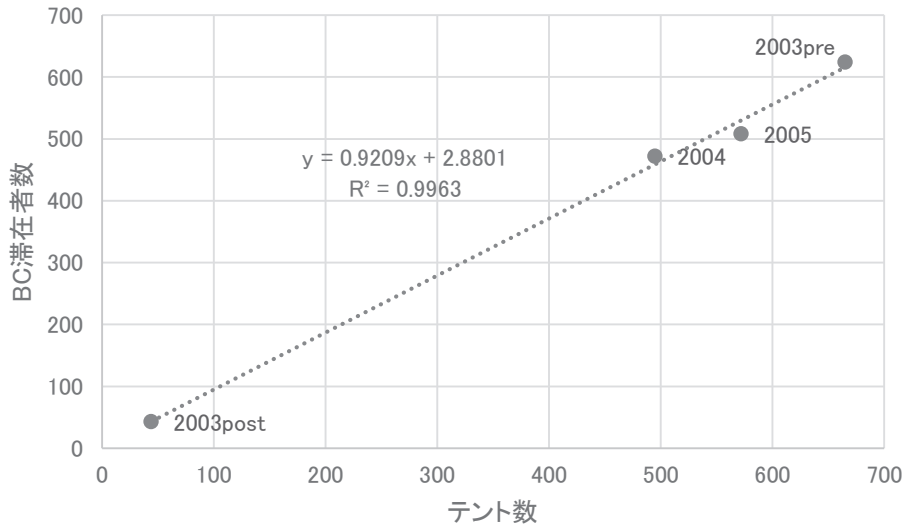


図 19 現地調査データを用いたベースキャンプ内のテント数と滞在者数との相関分析

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<sup>2</sup>(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12)。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 12 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 224.7 kg 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20)。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2,266.0kg、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。

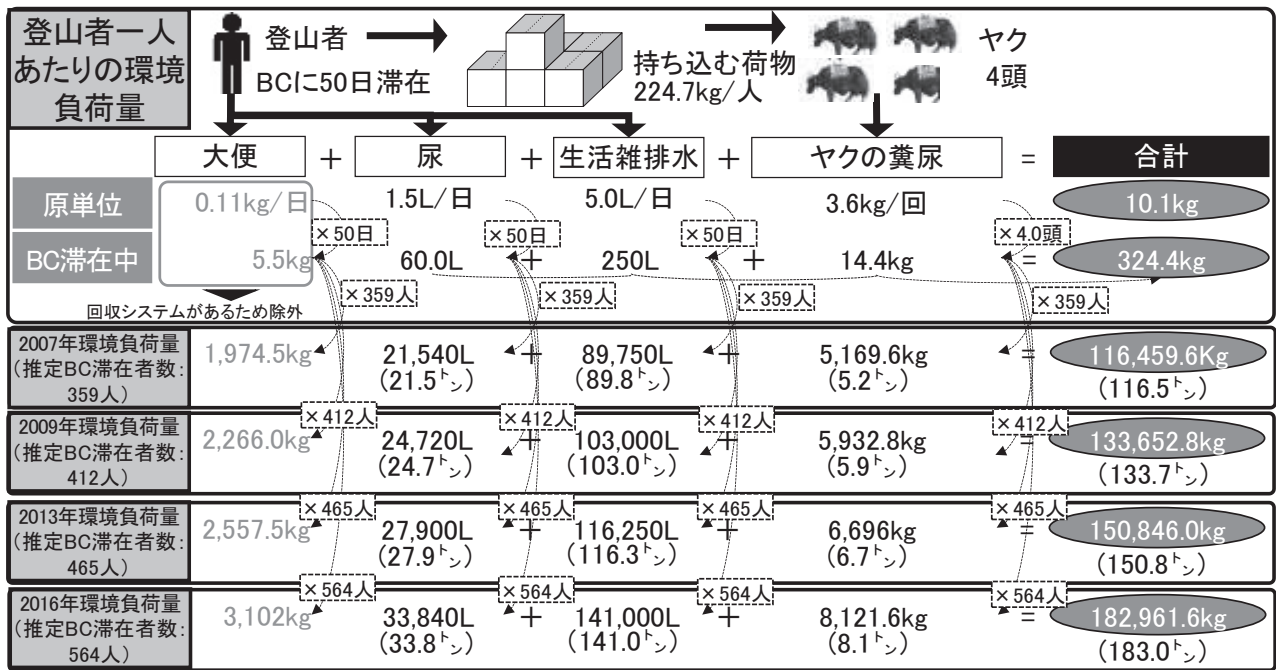


図 20 エベレスト・ベースキャンプにおける推定ベースキャンプ滞在者数を用いた 4 時期の環境負荷量の算出

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

##### ①災害リスク評価に供することが可能なアーカイブデータの探索

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

## Historical climate data

This is WorldClim version 2.1 climate data for 1970-2000. This version was released in January 2020.

There are monthly climate data for minimum, mean, and maximum temperature, precipitation, solar radiation, wind speed, water vapor pressure, and for total precipitation. There are also 19 "bioclimatic" variables.

The data is available at the four spatial resolutions, between 30 seconds (~1 km<sup>2</sup>) to 10 minutes (~340 km<sup>2</sup>). Each download is a "zip" file containing 12 GeoTiff (.tif) files, one for each month of the year (January is 1; December is 12).

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

図 21 World Clim の サイト<<https://www.worldclim.org/data/worldclim21.html>>

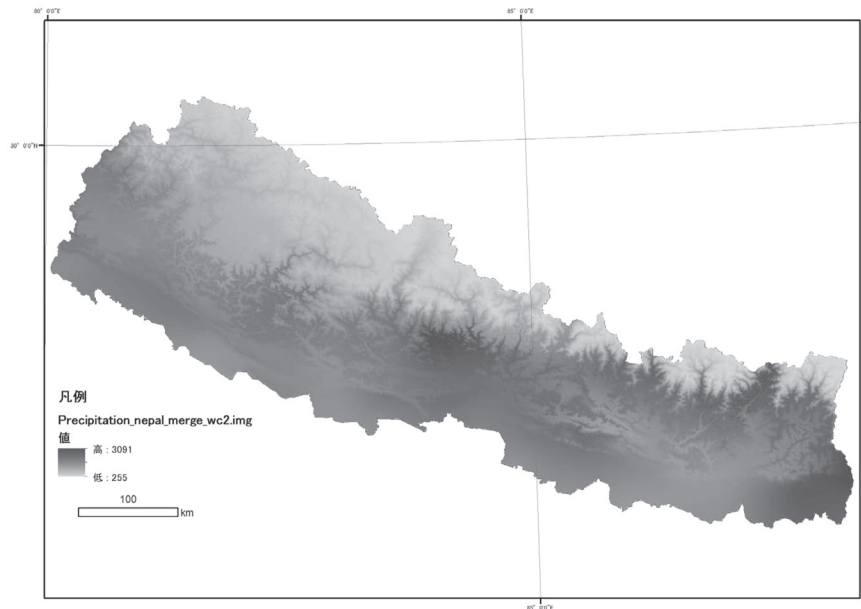


図 22 ネパール全土における降水量（平年値）

## ②光学衛星画像を用いたトレイル沿いの崩壊地抽出

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

### i) 光学センサによる崩壊地抽出に用いた指標

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

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

ただし、NIR：近赤外波長光、Red：赤波長光

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

ただし、Red：赤波長光、Green：緑波長光、Blue：青波長光

### ii) 崩壊地抽出の手順

解析手順を図23の光学センサによる崩壊地の抽出フローに示す。NDVIおよびGSIの算出にあたり、異なる季節の画像を比較するため、NDVIおよびGSIの閾値は画像ごとに設定を行った。

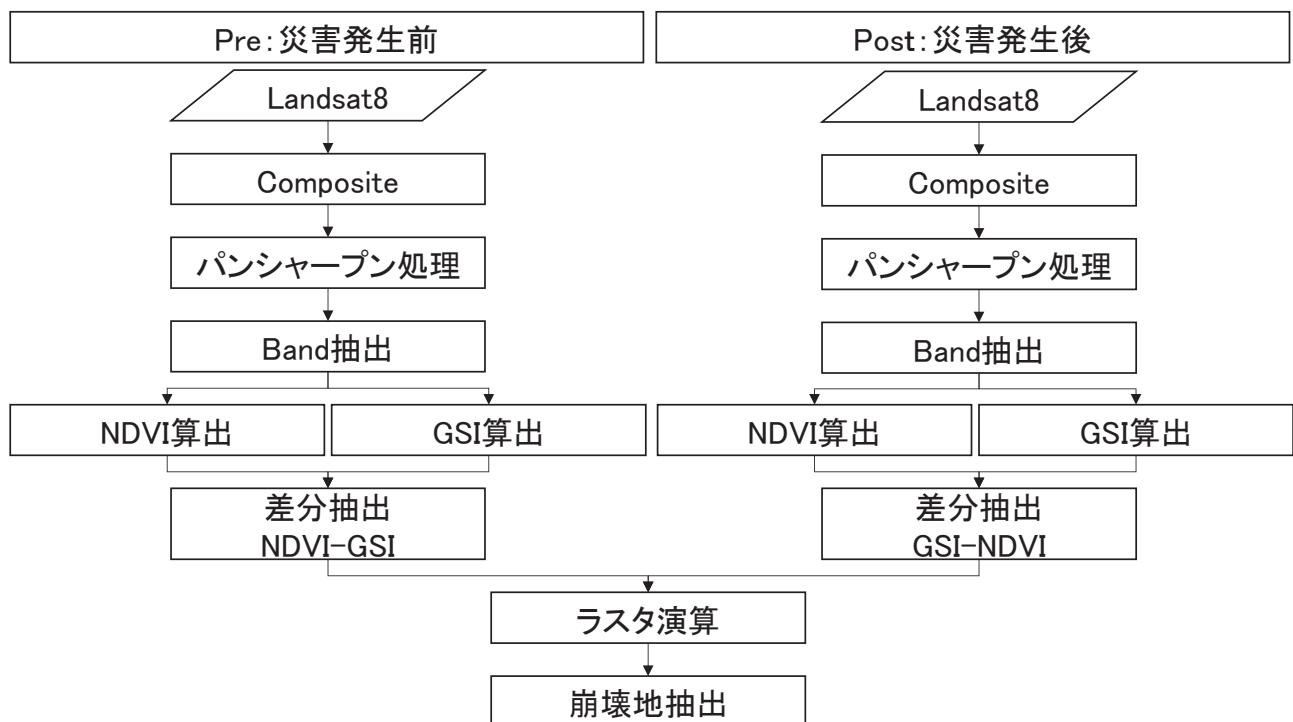


図23 光学センサ衛星画像を用いた崩壊地の抽出フロー

iii) 崩壊地の抽出

抽出の過程と結果を図 24、25、26 および図 27 に示す。あわせて、表 13 において解析に使用した光学衛星画像と各時期における NDVI および GIS の閾値を示す。

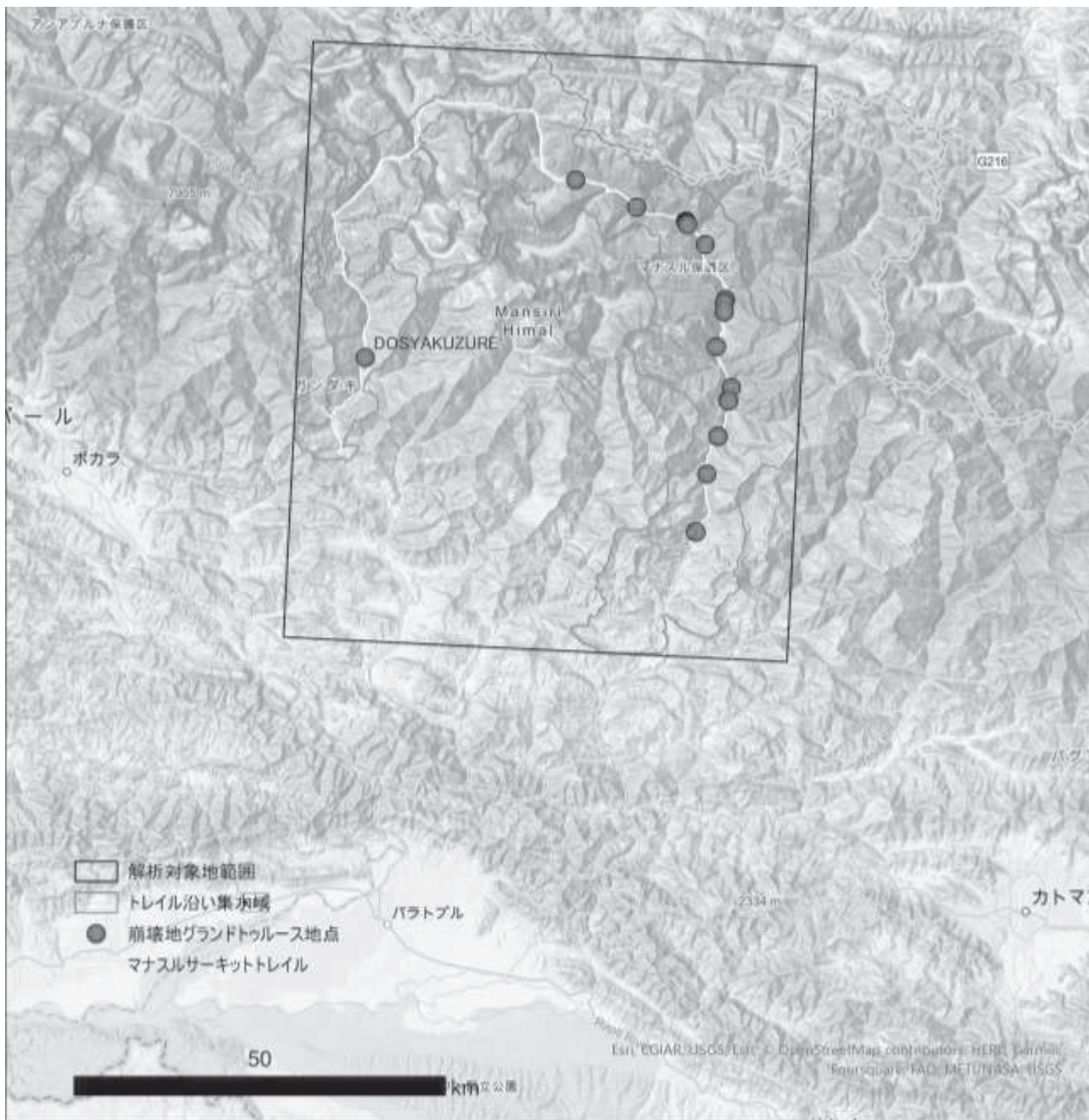


図 24 解析対象地（抽出エリア）

表 13 解析に使用した光学衛星画像と各時期における NDVI および GIS の閾値

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

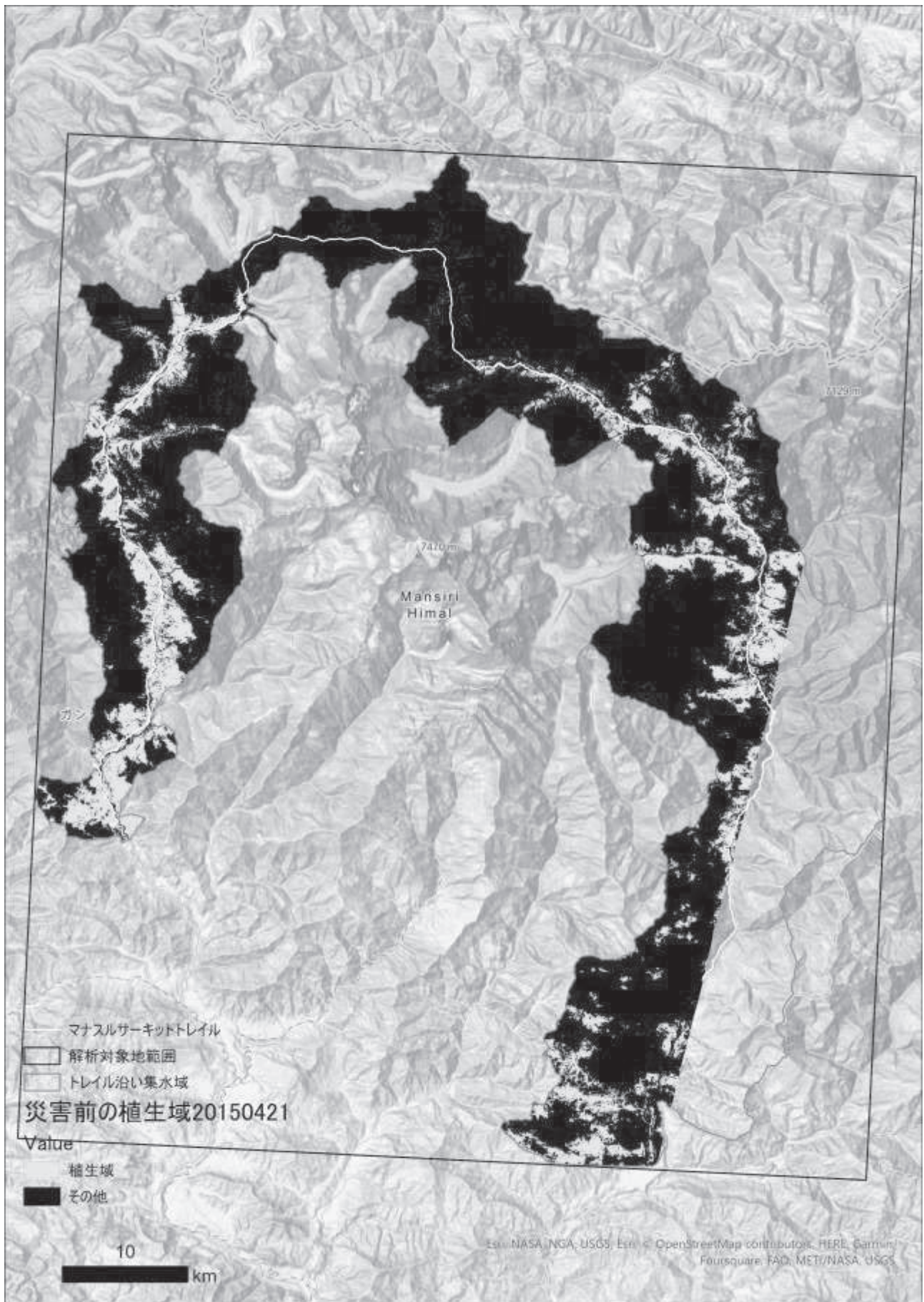


図 25 災害（ネパール地震発生 2015. 04. 25）前の植生域（2015/04/21 および 04/05）



図 26 災害（ネパール地震発生 2015. 04. 25）後の裸地域（2015/06/08）



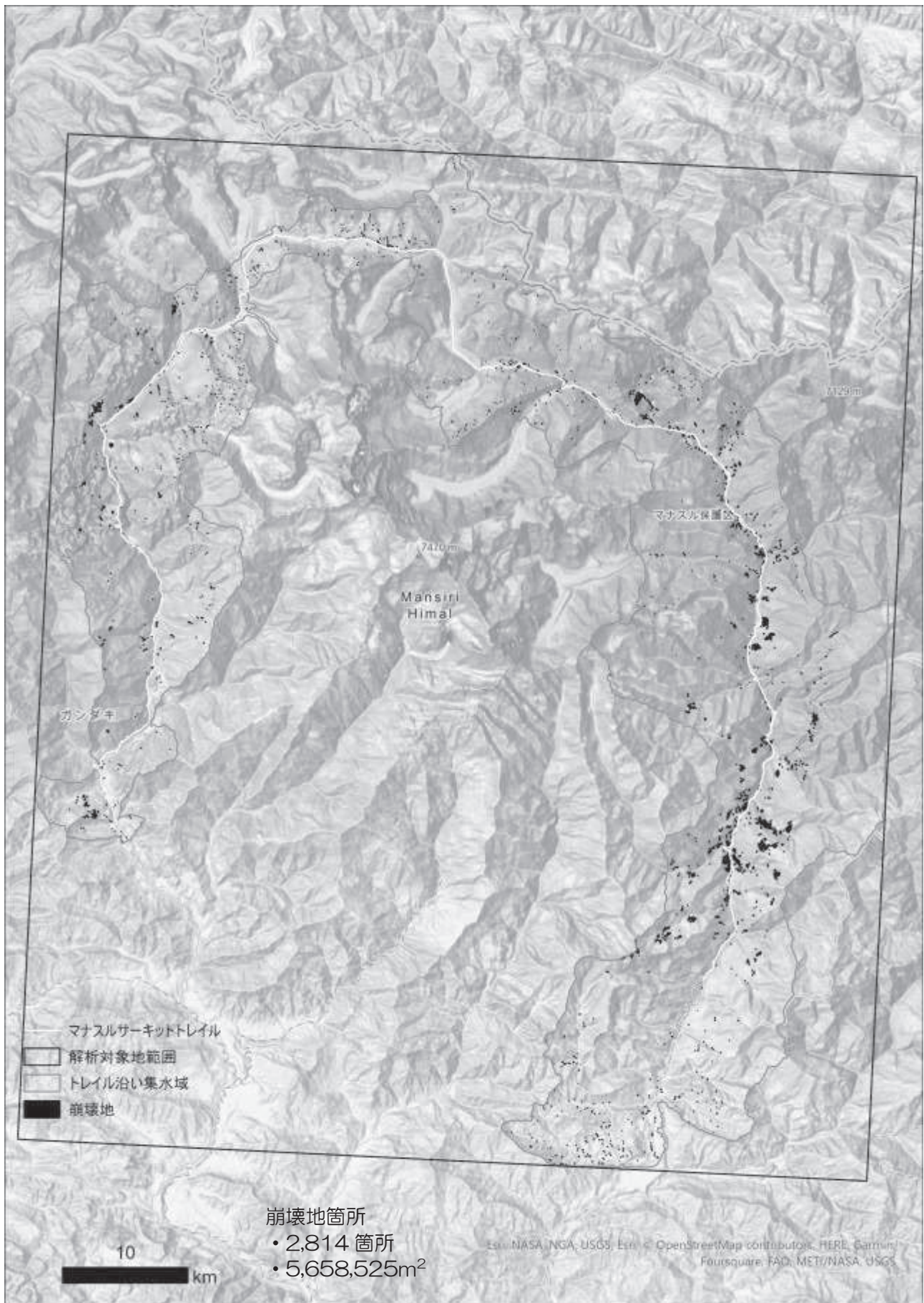


図 27 崩壊地の抽出結果（植生域→裸地域への変化箇所）


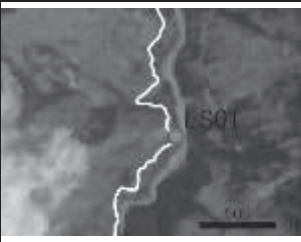
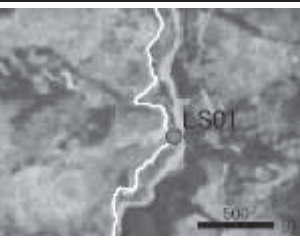

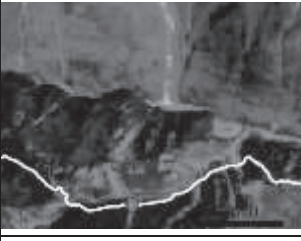
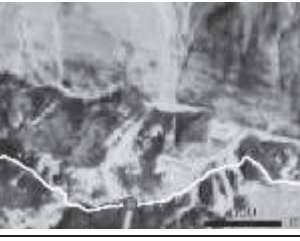







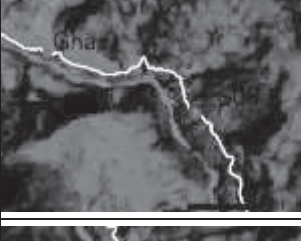
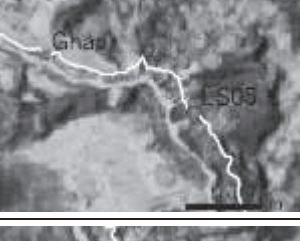

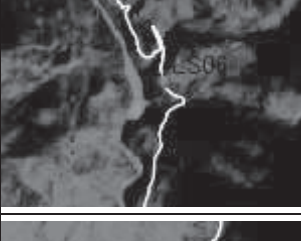
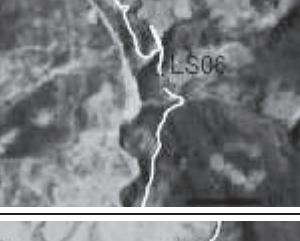

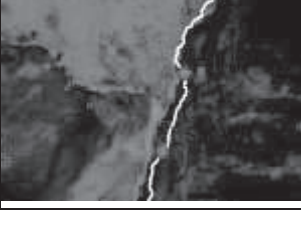
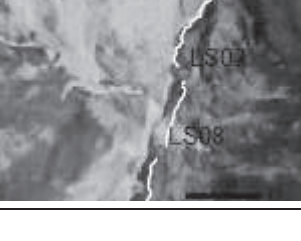
#### iv) 抽出精度の評価


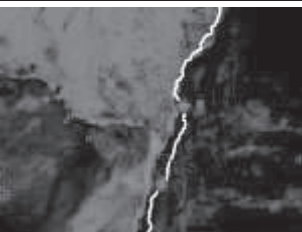
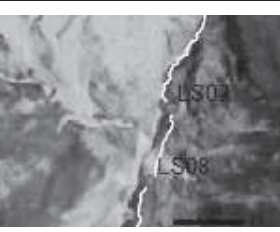


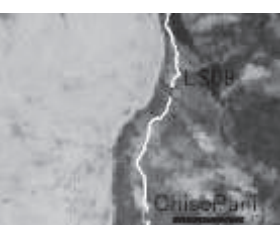


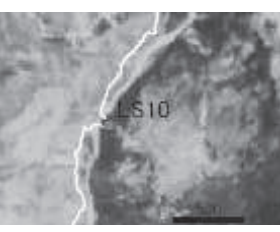

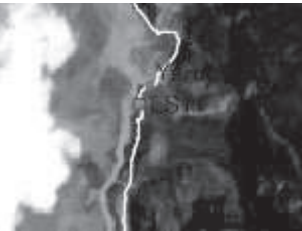
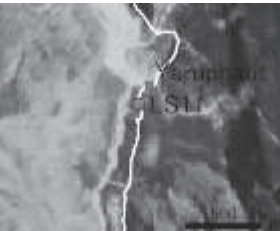

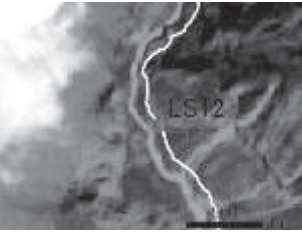
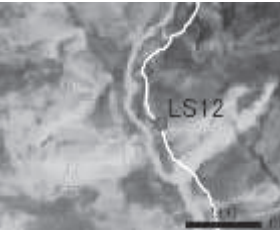

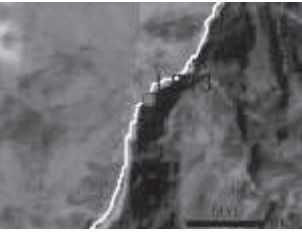
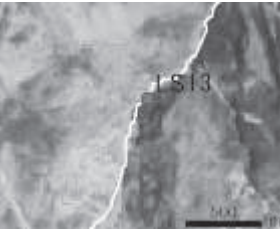

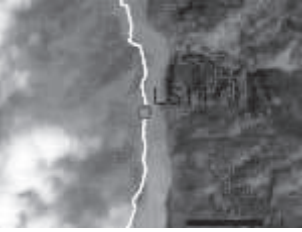
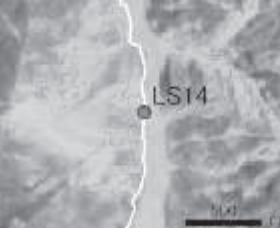


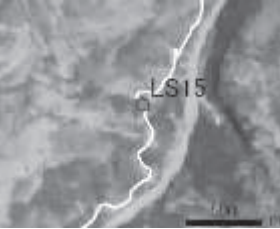
対象地の 2016 年 8 月 20 日から 9 月 6 日まで、マナスルサーキットトレイルを歩行し、ルート上にて目視で確認できた崩壊地をグランドトゥルースとして、先の光学衛星画像から抽出した崩壊地との抽出精度の評価を行った。ルート上目視で確認できた崩壊地および光学衛星画像から抽出した崩壊地の対比を表 14 に示した。

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

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

表 14 ルート上目視で確認できた崩壊地および光学衛星画像から抽出した崩壊地の対比

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

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

### ③合成開口レーダ（SAR）衛星画像を用いたトレイル沿いの崩壊地抽出

光学衛星画像は、地球観測衛星の中で取得画像のアーカイブが豊富であり、衛星画像を用いた画像解析には有効である一方、当該観測地の上空と衛星センサの間に雲が発生するなど悪天候の場合や夜間の場合には観測が不可能となる。能動型マイクロセンサである合成開口レーダ（以下 SAR : Synthetic Aperture Rader）は、こうした光学センサの欠点であった悪天候や夜間でも観測及び画像取得が可能であり、高分解能な観測データを広域にかつ周期的に取得することが可能である（田口, 2019）。SAR 観測波の反射強度を示す後方散乱係数は、植生、裸地や水域などで特徴的な挙動を示す。そのため、地表面の挙動や浸水した箇所など変動域の抽出などが可能となり、SAR 画像は防災分野での利用が注目されている。

SAR を用いた地表面の変動域の抽出手法の一つとして干渉 SAR がある。干渉 SAR は、2 時期の SAR データを干渉させ、位相差を求めることで斜面災害や地殻変動が生じた箇所を抽出する技術である。そこで山岳地を対象にかつ前項で試みた比較的小規模な斜面災害（降雨等で生じたがけ崩れや地滑り）の箇所の抽出を試みた。

#### i) 使用データ

干渉 SAR に供したデータは、表 15 に示したとおり Sentinel-1 を用いた。Sentinel-1 は欧州宇宙機関（ESA : European Space Agency）により運用されている地球観測衛星であり、C バンド（波長約 5.5 cm）を観測している合成開口レーダである。Sentinel-1 は、回帰日数が 12 日であるため、観測データのアーカイブが豊富である。本研究では、Sentinel-1 の観測モードの一つである IWS (Interferometric Wide Swath) において、Descending（南行）軌道と Ascending（北行）軌道ともにデータが豊富に存在し、様々なデータペア（Master と Slave）の検討が可能である。なお解析には、偏波 VV の組み合わせの SAR 画像を用いて、干渉 SAR 処理を行った。

表 15 使用データ一覧

Scene	Master	Slave	製品タイプ	製品レベル 及び偏光タイプ	Orbit	$B_{PERP}$ 軌道間距離 の垂直基線長(m)
Rain	2016.04.15	2016.10.24	SLC	1SSV	Ascending	16.9
	2016.05.17	2016.09.14	SLC	1SSV	Descending	15.79
Before Rain	2015.12.17	2016.01.10	SLC	1SSV	Ascending	27.61
After Rain	2016.09.06	2016.09.30	SLC	1SSV	Ascending	8.41

#### ii) 解析手法

解析手順を図 27 の SAR 画像による崩壊地の抽出フローに示す。表 15 に示した通り、取得した SAR 画像データを用いて干渉画像判読及び生成 DSM (Digital Surface Model) 差分解析を行った。

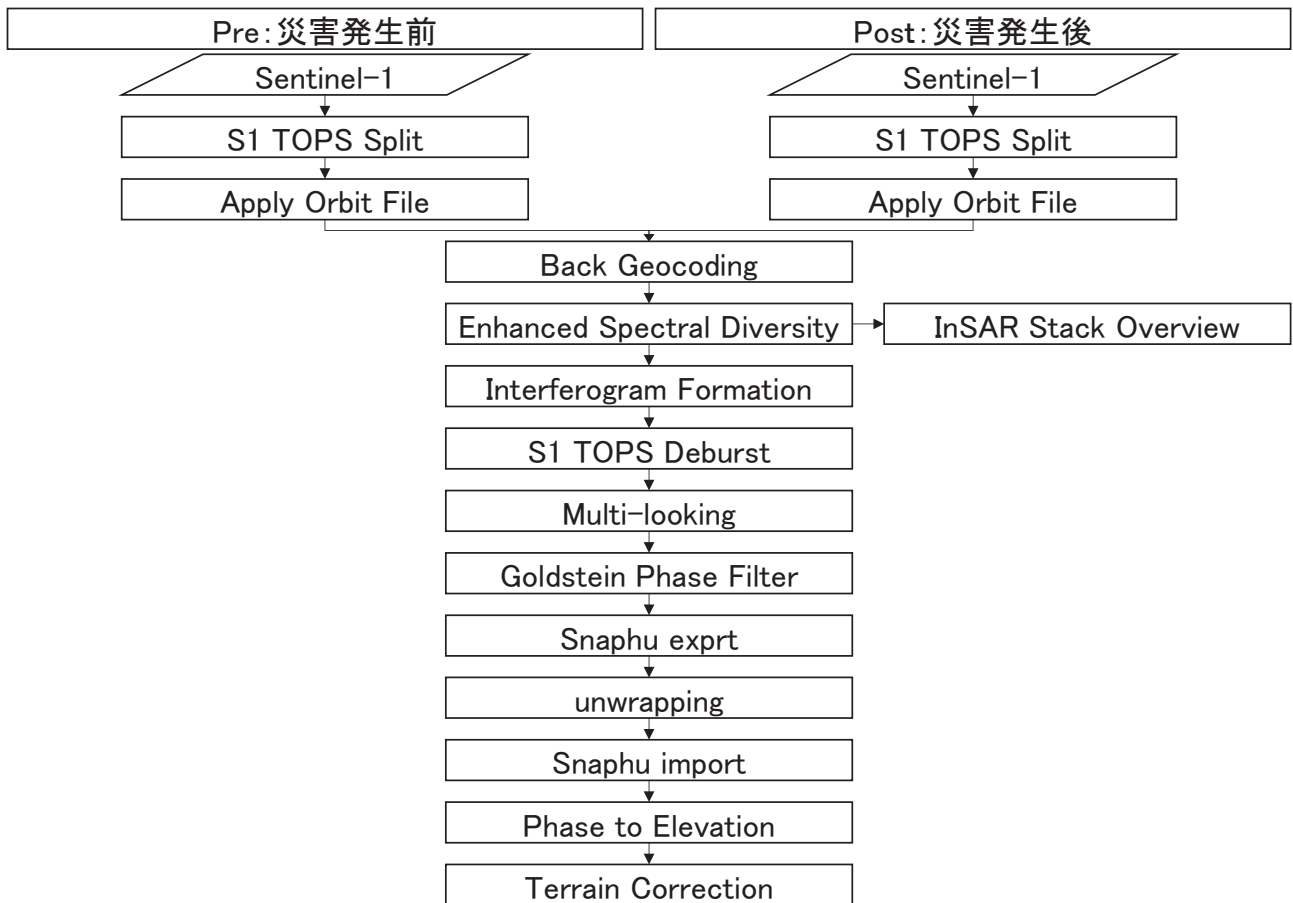
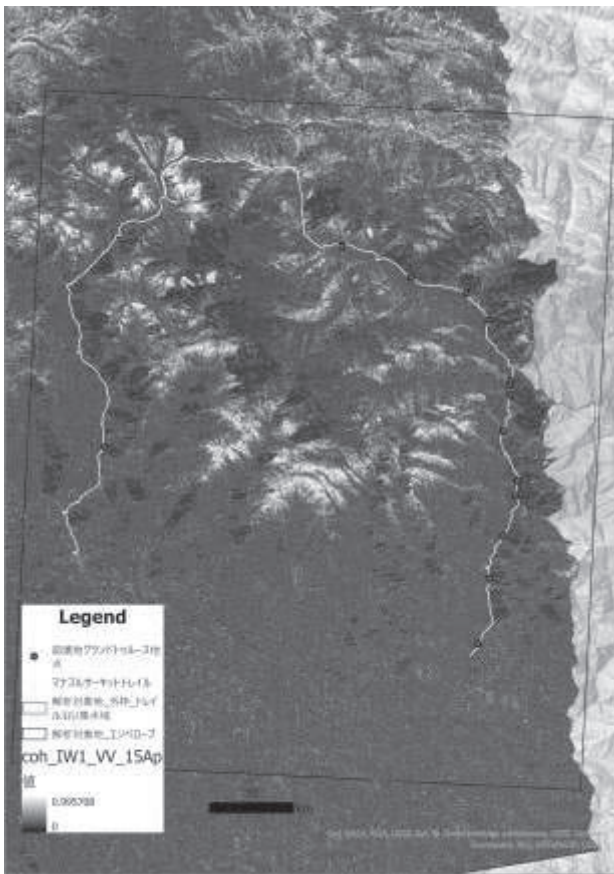


図 27 SAR 画像を用いた崩壊地の抽出フロー

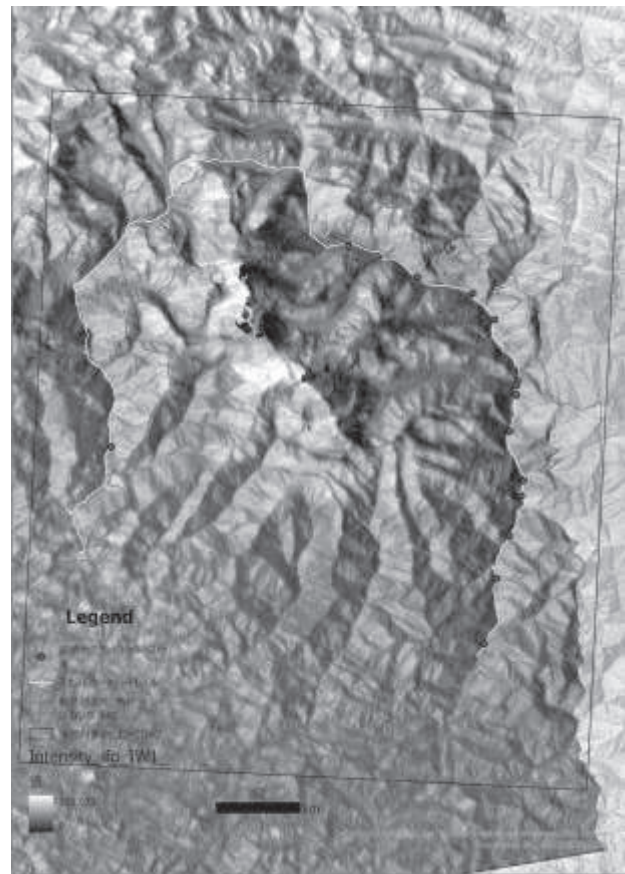
iii) 干渉画像判読によるトレイル沿いの崩壊地の抽出

干渉 SAR 処理にて生成した各種画像を図 28 及び図 29 に示す。Ascending 及び Descending の画像いずれも斜面災害発生域では規則的な干渉縞の分布しない非干渉域が多く広がっている結果となった。降雨前（プレモンスーン期）と降雨後（ポストモンスーン期）前後におけるデータ間の相関についてコヒーレンス値を示すコヒーレンス画像を見ると、氷河が存在する高標高地においてはコヒーレンス値が高いものの、トレイル沿いにおいては相対的に低い値となった。

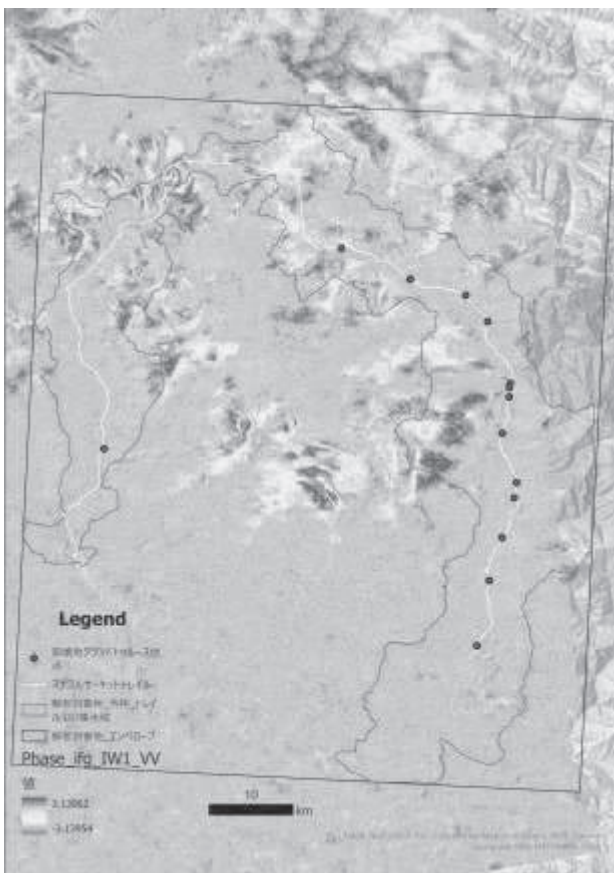
次に降雨前（プレモンスーン期）内での干渉 SAR 処理を行い DSM（Digital Surface Model：数値表層モデル）を生成し、併せて降雨後（ポストモンスーン期）内での干渉 SAR 処理を行い DSM（Digital Surface Model：数値表層モデル）を生成し、両者のデータを差分し、差分 DSM 画像を作成した（図 30 及び表 16）。この結果から、斜面災害が生じていると考えられる箇所では高いマイナスの値を示している。これは特に高標高地は、氷河の挙動などが観測されていることが推察される。現地調査で崩壊地の目視確認が取れている箇所については、おのおの拡大した図を表 16 に示した。その結果、15 か所中 9 か所が完全にポイント（赤丸）と差分 DSM から抽出した崩壊地と重ねっており、かつ近接するものは 4 か所であった。計 13 か所はおおむね抽出できたといえる。この場合の抽出率は 86.7%であった。光学衛星画像を用いたケースより高い精度であった。このことから SAR 画像を用いた手法の方がトレイル沿いの崩壊地の抽出には有効であることが示された。



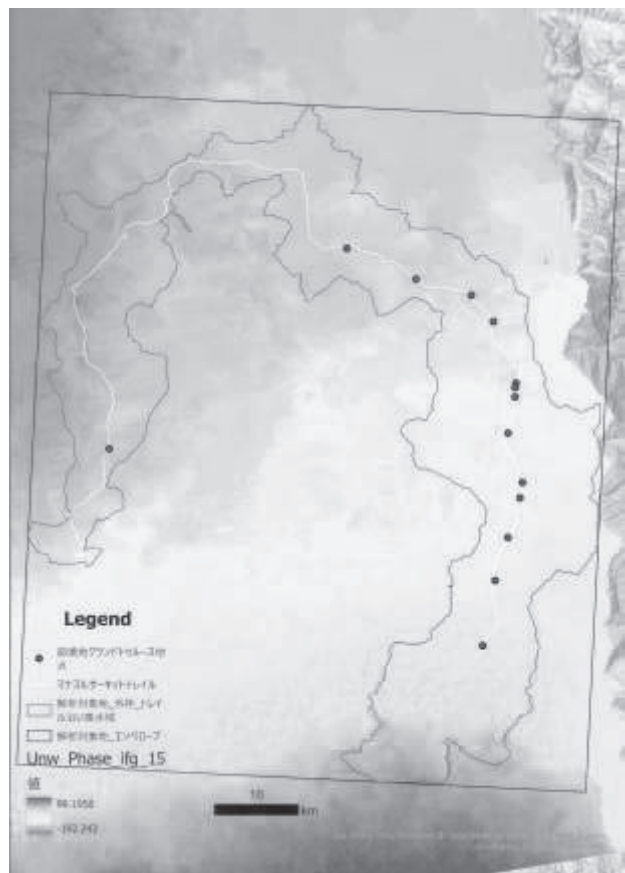
コヒーレンス画像



反射強度画像

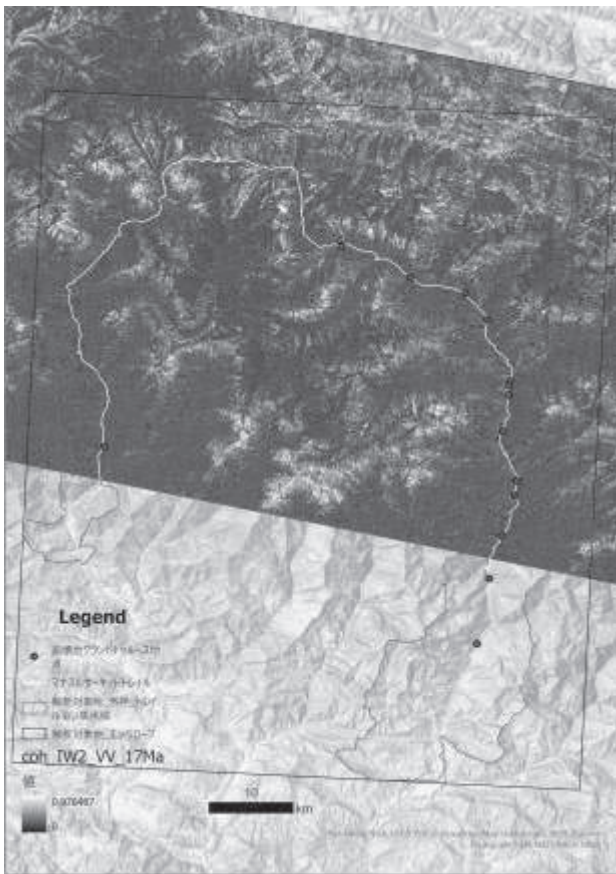


生成干渉画像

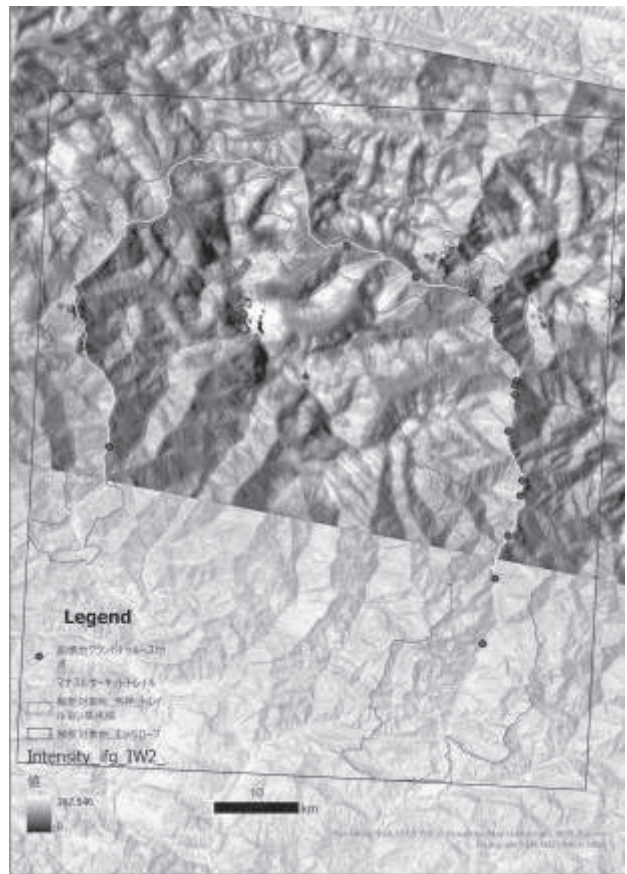


位相アンラッピング生成画像

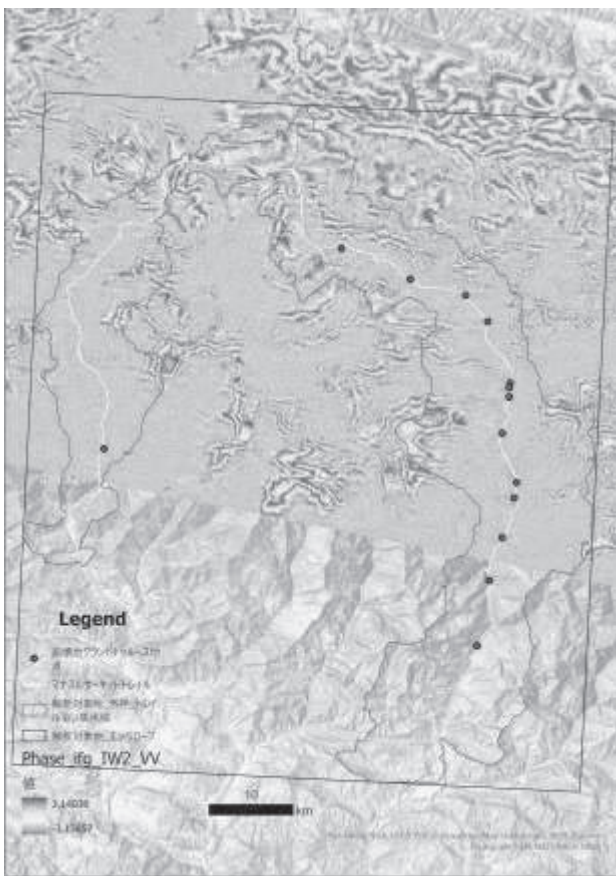
図 28 干渉 SAR により各種生成した画像 (Ascending)



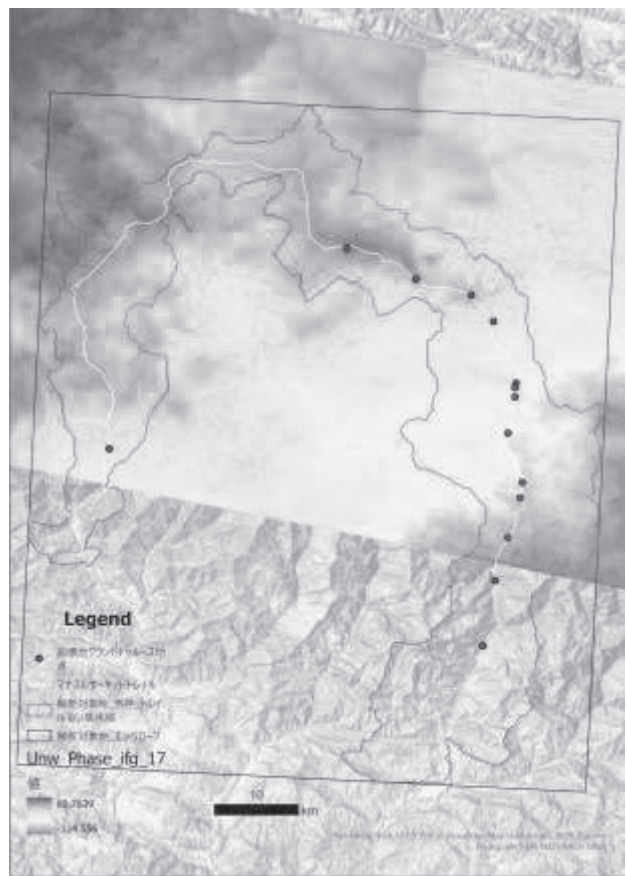
コヒーレンス画像



反射強度画像



生成干渉画像



位相アンラッピング生成画像

図 29 干渉 SAR により各種生成した画像 (Descending)



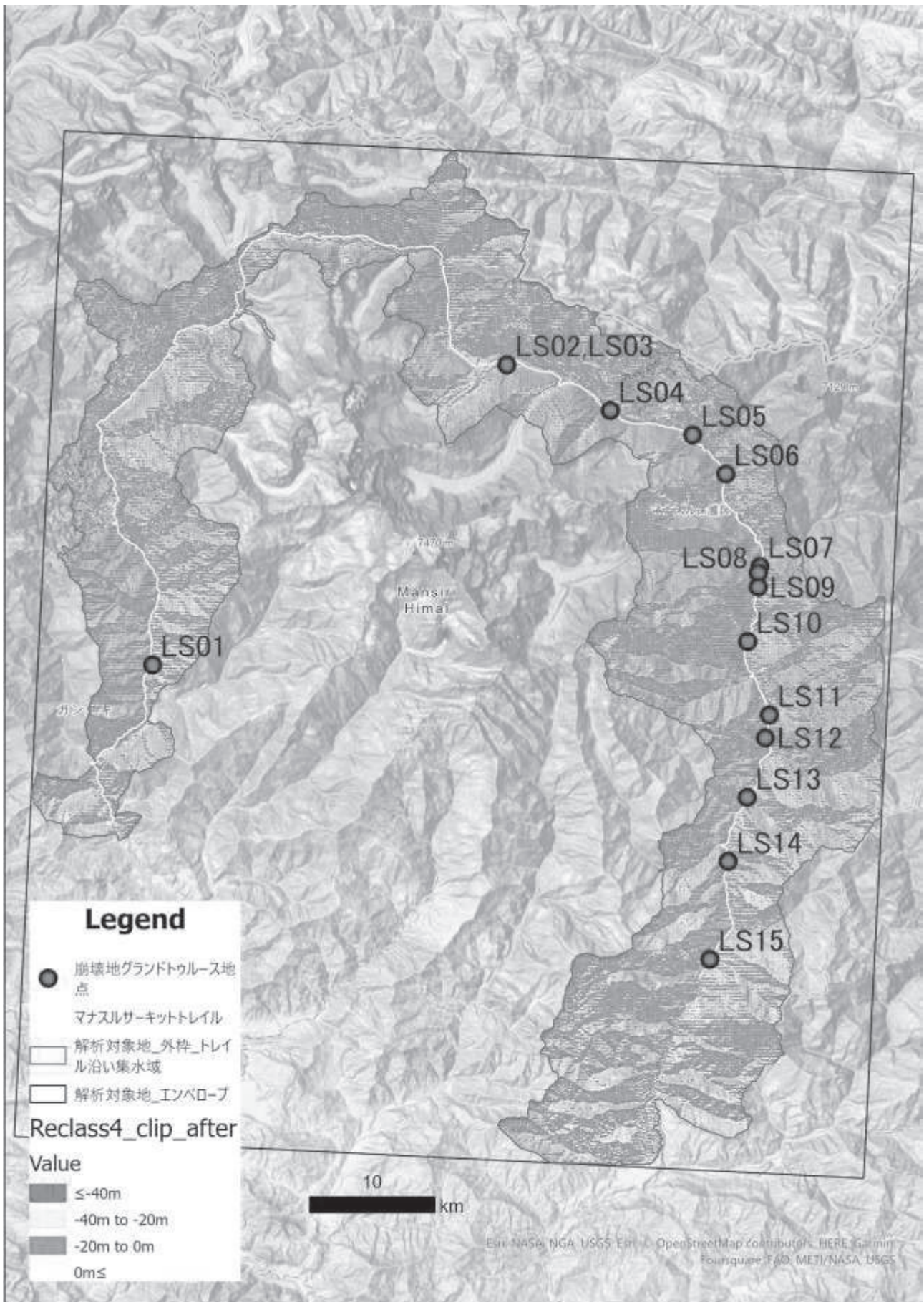
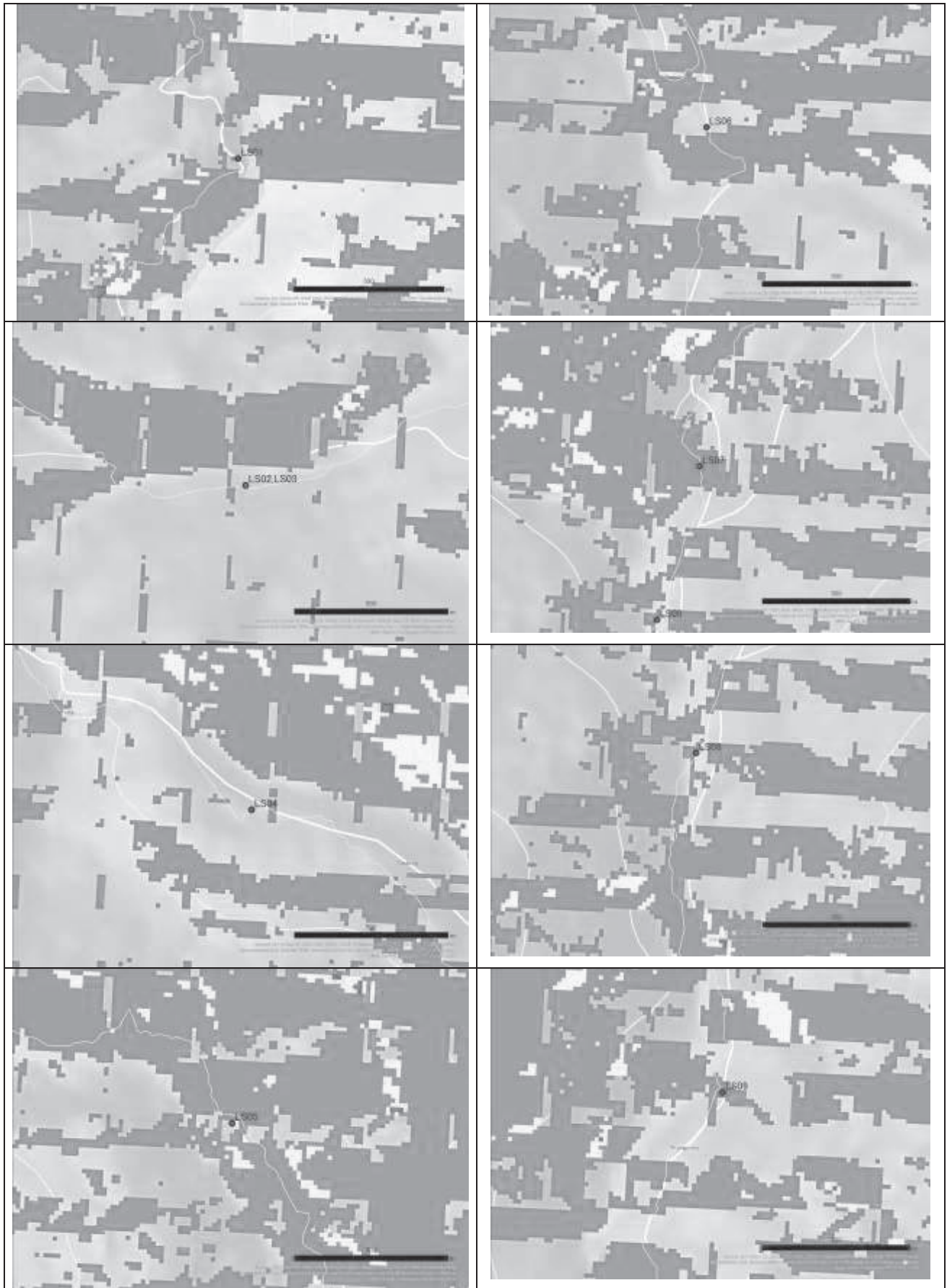
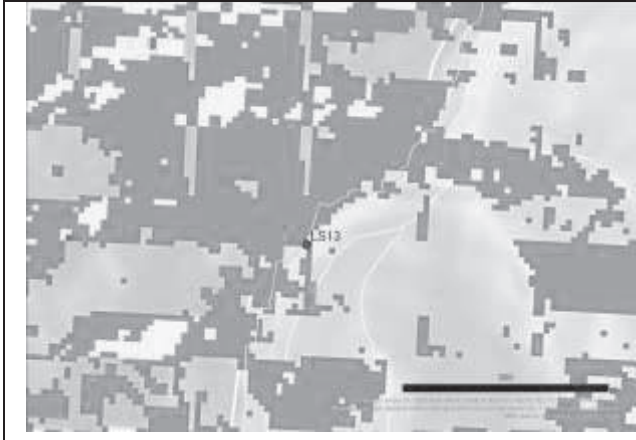
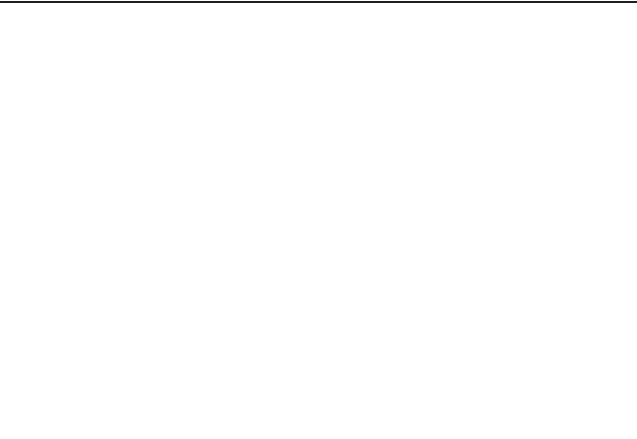
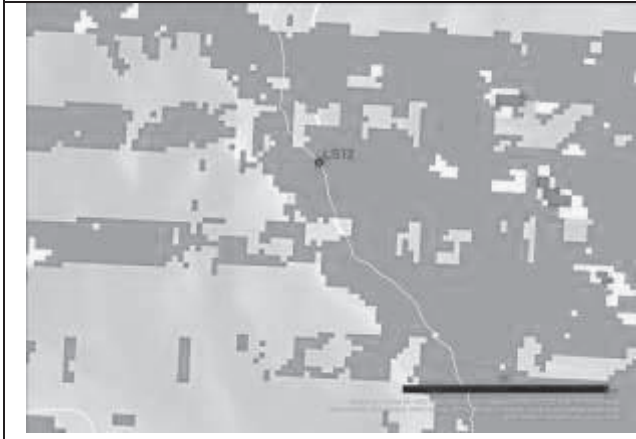
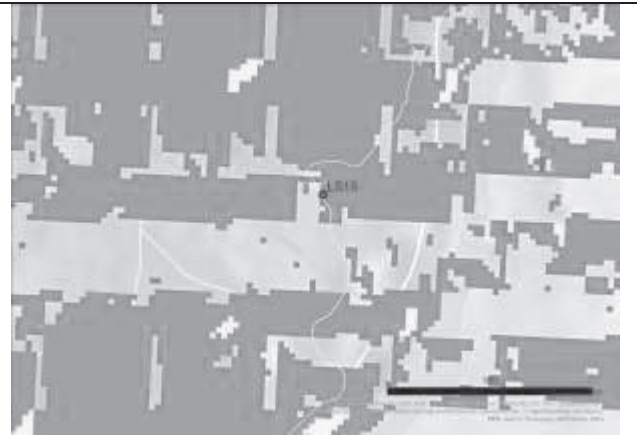
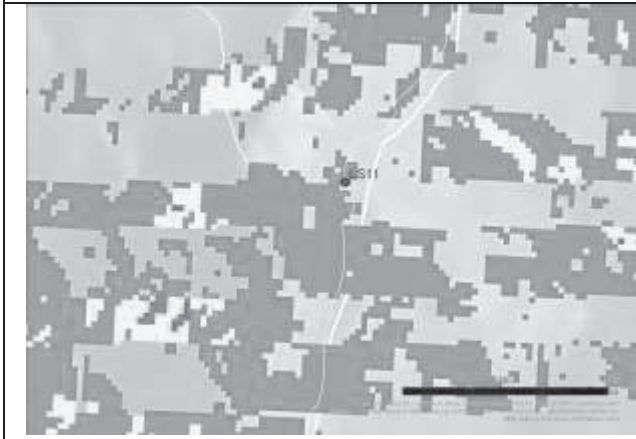
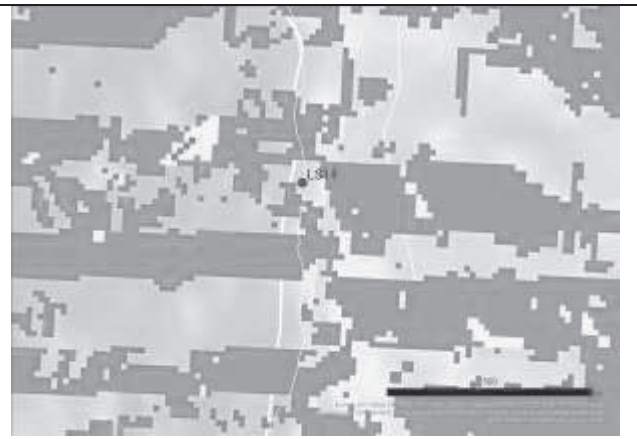
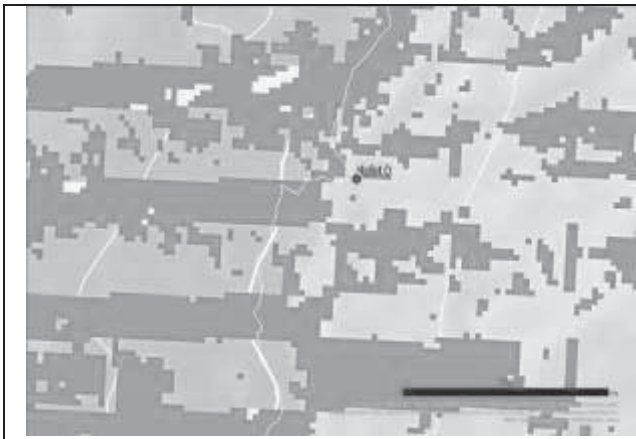


図 30 差分 DSM 画像 (AfterDSM-BeforeDSM)

表 16 ルート上目視できた崩壊地別に見る SAR 画像より差分 DSM 画像から抽出した斜面崩壊地





## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

### 1) ヒマラヤ特有の垂直性及び隔離性を考慮した生物多様性の定量化

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

### 2) 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
- ・外国人技能実習制度における農業分野の技能移転を主眼に、日本及びネパール両国の農業現場や制度の運営・支援主体に双方における実装的な知見の取得

### 3) 災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価

- ・気象データ整備状況の把握と災害ポテンシャル評価に資することが可能な気象データの探索（観測項目、データ取得頻度、公開形式、面的データの有無）
- ・光学衛星画像を用いて、2015年4月25日に発生したネパール地震に伴う、マナスルサーキットトレイル上で発生した崩壊地の抽出を試みた。その結果、ルート上にて目視で確認できた崩壊地の周辺において、光学衛星画像からの抽出崩壊が1画素（15m×15m）以上含まれている場合は、その崩壊地を「抽出」と判定すると、全崩壊箇所数（15箇所）に対し、抽出できた崩壊箇所は9箇所であり、その抽出率は60%であった。
- ・SAR画像を用いて、2016年のプレモンスーン期及びポストモンスーン期前後における、マナスルサーキットトレイル上で発生した崩壊地の抽出を試みた。その結果、ルート上にて目視で確認できた崩壊地の周辺において、SAR衛星画像から抽出できた崩壊地を「抽出」と判定すると、全崩壊箇所数（15箇所）に対し、抽出できた崩壊箇所は13箇所であり、その抽出率は86.7%であった。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

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

研究期間中に予定していた当該地（エベレスト及びマナスルエリア）における氷河および周辺の水環境のサンプリングの実施が困難となり、当初構想していた氷河融解の間接効果（ローカルモデル）の機構の解明に至らなかった。ネパール国内における水質分析の委託先等は把握できたため、研究期間終了後も引き続き、カウンターパートナーであるネパール農林大学との共同研究を維持しながら、現地調査の実施を行い、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

研究期間中に予定していた当該地（エベレスト、マナスル及びララ国立公園）における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/ヒアリング調査の実施が困難となり、当初構想していた現地取得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の解明には至らなかった。こちらも上記同様、研究期間終了後も引き続き、カウンターパートナーであるネパール農林大学との共同研究を維持しながら、現地調査の実施を行い、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の解明を行う。

### 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

研究期間中に予定していた当該地（エベレスト及びマナスルエリア）での現地調査の実施が困難となり、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に至らず、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が行えなかった。こちらにも上記と同様、研究期間終了後も引き続き、カウンターパートナーであるネパール農林大学との共同研究を維持しながら、現地調査の実施を行い、環境負荷量の算出を行う。

### 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

広域的な災害リスク評価を行うため、光学衛星画像および合成開口レーダ衛星画像を用いた画像解析は実施した。その結果、山岳地帯での斜面災害抽出には、合成開口レーダ衛星画像を用いて生成した DSM 差分画像が有効であったことが示唆された。しかし山岳地帯での生成 DSM 差分解析による斜面災害抽出は、レーダの届く斜面では斜面災害域を面的に捉えることが可能なものの、合成開口レーダ衛星からのレーダ照射角や地形形状、高温多湿な地域における大気中の水蒸気分布の不均一さが干渉処理の誤差要因として指摘されている。軌道別にみるアーカイブ状況を確認しつつ、崩壊地抽出に適する組み画像を取得し、各種補正を行い、画像解析の精度評価を行う。

### 5) 海外協定校との研究協力の維持について

1 点目は、国際共同による学術研究の基盤づくりとして、科研費 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化（B））の申請及び獲得に挑戦したいと考えている。これまで申請者は、当該科研費の申請を数回行っているが、審査結果では研究実施の実行性の部分が弱いと指摘がなされており、残念ながら採択に至っていない。研究遂行に必要な環境及び基盤づくりを強化し、もって継続的に国際共同による学術研究の実施を行っていききたい。

2 点目は、JST さくらサイエンスプログラムの申請と獲得を考えている。本海外協定校共同研究の実施をきっかけに、AFU 及び共同研究者の関係にあるネパール・ミッドウェスト大学の研究者から、短期留学支援プログラムである JST 主催のさくらサイエンスプログラムの受け入れ機関（ホスト校）依頼を受けた。「持続可能な農業の実現に向けた農業 DX 及びアントプレナーシップ教育の体験プログラム」というテーマで申請書を作成し、2022 年 6 月及び 9 月に申請を行ったが、いずれも残念ながら採択に至っていない。しかし AFU 側からの強い希望もあり、現在も継続的に申請を行い、国際化推進に貢献していきたいと考えている。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 染谷香里・下嶋聖・鈴木伸一：気候、立地及び栽培法から検討した適用可能な農業技術の包括的評価方法に関する研究－外国人技能実習制度における農業分野の技能移転を対象として－：実践総合農学会 個別研究報告 2022.07.16 オンライン開催

# 2022年度 海外協定校との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 中塚 博子

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
熱帯地域への生物的土壌物理性改良システムの普及に向けた下層土の団粒化機構の解明	1,440,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	中塚 博子	農学部 農学科・助教	土壌・微生物分析、総括
研究分担者	Elke JBN Cardoso	サンパウロ大学・Brazilian Supervisor	微生物多様性解析

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

熱帯・亜熱帯地域は、作物生産に適した気候であり、将来の食糧生産拠点として重要な地域であるが、土壌劣化が深刻である(FAO, 2011)。一方、申請者らの研究で、緑肥やキノコ廃菌床を利用した日本とブラジルの圃場で、表層から下層（約 0～100 cm）まで、土壌の団粒化が促進して土壌物理性が向上したことを発見した(Nakatsuka et al., 2016 他)。さらに、上記圃場では下層土の物理性改善による作物根の伸長領域が増加したため、生産性が向上した(Nakatsuka and Tamura, 2016 他)。上記の緑肥やキノコ廃菌床などの生物による団粒化機構を利用して下層土の物理性を改善させる農業システムー生物的土壌物理性改良システムーを、土壌劣化が深刻な熱帯・亜熱帯地域で普及させることで、土壌劣化と食糧問題の双方を解決できると考えた。

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

## 5. 研究目的

本研究は、日本およびブラジルの土壌で、直径 8 cm、高さ 30 cmの不攪乱土壌コアを用いた栽培試験を行い、下層土の団粒化機構を明らかにすることを目的とする。さらに、国際比較として東京農業大学

と海外協定校であるサンパウロ大学(USP-ESALQ)の Professor Elke JBN Cardoso と協力して圃場での実証実験を行い、生物的土壌改良システムの国際的な普及に向けた生産性および土壌劣化抑制効果を評価する。

## 6. 研究（実験）方法

### 6.1. 緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験

#### 6.1.1. 20 cm不攪乱土壌コアを用いた栽培試験 (ESALQ-USP: Pracicaba-SP, Brazil)

2022年10月13日にブラジルサンパウロ州 Piracicaba, ESALQ-USP (22°43'6"S, 47°36'56"W ; 標高590m ; 赤黄色土、図1)において、直径10 cm、高さ20 cmの不攪乱土壌コア試料を採取し、緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験を行った(図2)。処理区は、緑肥区、廃菌床区、緑肥+廃菌床区、対照区を各4反復設けた。また、アーバスキュラー菌根菌感染の調査のため、緑肥区と緑肥+廃菌床区を各3反復さらに設けた。緑肥はトウモロコシ、廃菌床は5mm以下に篩ったヒラタケ廃菌床を用いた。栽培試験は2022年10月から2023年2月まで連作で3作行った。トウモロコシは1コア2粒播種し(催芽処理済み)、定着後1本に間引いた。廃菌床は表層0~5cmに各作20g添加した。栽培は、ESALQ-USPの温室で行い、灌水は適宜行った。



図1. ESALQ-USP 試料採取圃場の土壌



図2. 栽培試験の様子

また、ブラジルサンパウロ州 Piracicaba, ESALQ-USP (赤黄色土)において、表層(2~7 cm)と下層(12~17 cm)から不攪乱土壌コア試料を各3反復ずつ採取し、物理性分析に供した。また、表層(0~10 cm)と下層(10~20 cm)から化学性分析用の土壌試料を採取し、風乾後2mmの篩に通して化学性分析に供した。

#### 6.1.2. 30 cm不攪乱土壌コアを用いた栽培試験 (厚木キャンパス:黒ボク土、宮古亜熱帯農場:富塩基土)

2018年と2021年に厚木キャンパス圃場及び宮古亜熱帯農場の下層土(20~30cm以下)において、直径8 cm、高さ30 cmの不攪乱土壌コア試料を採取し、緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験を行った。処理区は、緑肥区、廃菌床区、緑肥+廃菌床区、対照区を各4反復設けた。緑肥はデントコーン、廃菌床は10mm以下に篩ったシイタケ廃菌床を用いた。栽培試験は連作で3作行った。デントコーンは1コア2粒播種し(催芽処理済み)、廃菌床は表層0~7.5cmに1作目は20g、2作目は0g、3作目は5g添加した。栽培は、東京農業大学厚木キャンパスのガラス温室で行い、灌水は適宜行った。

### 6.1.3. 30 cmポットを用いた栽培試験（農大圃場下層土）

2021年6月に東京農業大学厚木キャンパス農地において、深さ30 cm以下の下層土(黒ボク土)を採取し、8mmの篩をかけて直径8 cm、高さ30 cmのプラスチックポットに充填し、緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験を行った。処理区は、緑肥区、廃菌床区、緑肥+廃菌床区、対照区を各3反復設けた。緑肥はデントコーン、廃菌床は1cm以下に粉碎したシイタケ廃菌床を用いた。栽培期間は、2021年6月～7月の1カ月の栽培を行う試験（1作試験）と、2021年9月から2022年1月まで3作連作を行う試験（3連作試験）を実施した。デントコーンは1ポット1粒（催芽処理済み）、廃菌床は表層0～7.5cmに10g添加した。また連作栽培では、1作目と3作目は10g添加し、2作目は無添加とした。栽培は、東京農業大学厚木キャンパスのガラス温室で行い、灌水は適宜行った。

### 6.1.4. 植物の地上部収量調査

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

### 6.1.5. 土壌の化学性および生物性分析

30cmポット栽培試験の土壌（深さ20～27 cm）の土壌（未風乾、<2 mm）を用いて土壌の化学性および生物性分析を行った。生物性分析は、細菌+放線菌数、糸状菌数（希釈平板法）、土壌酵素活性（ $\beta$ -グルコシダーゼ活性、プロテアーゼ活性）、バイオマス炭素および窒素量（クロロホルムくん蒸法）を行った。化学性分析は、無機態窒素量（硝酸態窒素量、アンモニア態窒素量）、土壌pHの測定を行った。

### 6.1.6. 土壌薄片の観察と画像解析

土壌薄片は、永塚・田村の方法を改良して作成した。不攪乱土壌試料（30 cmポットの17.5～22.5 cm）を凍結乾燥させた。乾燥後、不飽和ポリエステル樹脂で土壌試料を固化させた。完全に固化した試料を、切断、研磨して土壌薄片を作製した。

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

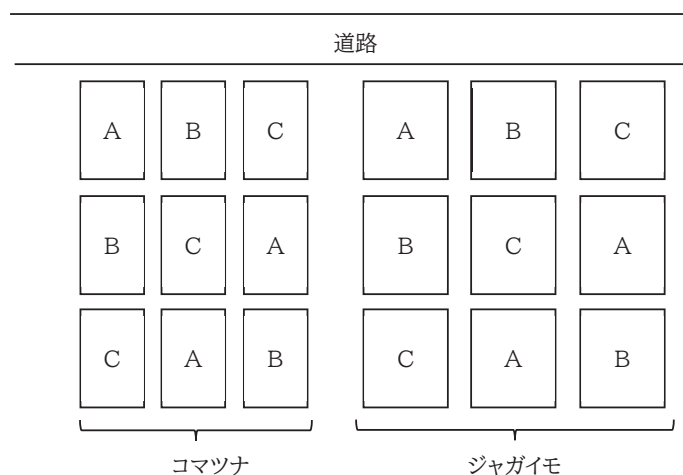
土壌薄片の画像をスキャナーで取り込み、画像解析を行った。孔隙面積、孔隙面積割合の計測は、二値化画像をもとに画像解析ソフト（Image J）を用いて行った。

## 6.2. 圃場での生物的土壌改良システムの実証試験（農大圃場）

### 6.2.1. 圃場試験設計

東京農業大学内の露地圃場でシイタケ廃菌床と発酵鶏糞堆肥を併用し、作物を育てた。廃菌床+鶏糞堆肥区、廃菌床+1/2 鶏糞堆肥区、鶏糞堆肥区の3つの試験区をそれぞれの作物につき3反復設けた（図3）。鶏糞堆肥の施肥量は神奈川県施肥基準の窒素量を参考にした。作物はジャガイモ (*Solanum tuberosum* L, ‘デジマ’) 及びコマツナ (*Brassica rapa* var. *perviridis*, ‘味彩’, トーホク交配) を栽培した。





A: 廃菌床+鶏糞堆肥区、B 廃菌床+1/2 鶏糞堆肥区、C: 鶏糞堆肥区

図 3. 圃場栽培試験設計

### 6.2.2. 収量調査、土壌理化学分析

2022 年 10 月 9 日に各処理区からコマツナを 5 株 (大きいもの) 選んで収穫し、地上部重、地上部長、乾燥重量、SPAD 値を測定した。また、2022 年 12 月 13 日にジャガイモを収穫し、地上部長、地上部重量、イモ重量を調べた。

施肥から収穫までの期間中、表層土壌 (0~10 cm) を各畝 3 か所から採取して風乾し、2mm の篩に通した後、土 pH(H<sub>2</sub>O)、pH(KCL)、可給態窒素量、仮比重を測定した。コマツナの圃場は施肥後 0、2、4、6 週目、ジャガイモは施肥後 0、2、4、6、7、9、11、13 週目にサンプリングを行った。可給態窒素は 80℃ 16 時間水抽出液の COD 簡易測定による畑土壌可給態窒素含量の迅速評価に準じて測定した。

## 7. 研究成果

### 7.1. 土壌コア栽培試験

#### 7.1.1. 20 cm 不攪乱土壌コアを用いた栽培試験 (ESALQ-USP: Praticaba-SP, Brazil)

草丈の生長量は、1~3 作目全てで緑肥+廃菌床区が緑肥区よりも高く、成長速度も速くなった (図 4)。また、緑肥区と緑肥+廃菌床区ともに、連作回数が増えるにつれ、生育速度及び播種から 20 日後の草丈が増加した。トウモロコシの地上部生重量と地上部乾燥重量についても、1 作目及び 2 作目ともに緑肥+廃菌床区が緑肥区よりも高くなった。



図 4. 20 cm コア栽培試験後のトウモロコシ (2 作目)

#### 7.1.2. 30 cm 不攪乱土壌コアを用いた栽培試験 (農大、黒ボク土)

土壌の微細構造は処理区間で変化し、対照区は発達弱度の垂角塊状構造、緑肥区は発達中度のバグとチャンネル構造、廃菌床区は発達弱度~中度の海綿状構造と発達中度の垂角塊状構造、緑肥+廃菌床区は発達中~強度の垂角塊状構造と小粒状構造の複合構造が観察された。また、土壌構造は、対照区<緑肥区<廃菌床区<緑肥区+廃菌床区の順で発達した構造が観察された。また、25×25mm の面積におけ

る孔隙の面積割合は、対照区と緑肥区は同様の孔隙面積率であったが、廃菌床投入区で高くなり、特に緑肥と廃菌床の併用で孔隙面積率は対照区の孔隙面積率の約2倍高い値となった。

図8に各処理区の土壌生物性の結果を示した。細菌数は処理区間で変化は認められなかったが、糸状菌数は、対照区と比較して緑肥及び廃菌床の使用で増加する傾向を示し、特に緑肥+廃菌床区で対照区よりも有意に高くなった。バイオマスCについても有意差は認められなかったが糸状菌数と同様の傾向を示した。バイオマスNは、有意差は認められなかったが、廃菌床区で他区よりも高い傾向を示した。また、対照区よりも緑肥区や緑肥+廃菌床区で高い傾向を示した。

## 7.2. 緑肥栽培および廃菌床添加による下層土の土壌生物性（農大、黒ボク土）

### 7.2.1. 単作栽培

生育調査の結果、葉長、葉重量、SPAD値、根重量において緑肥区より廃菌床+緑肥区の方が緑肥の生育が有意に増加した。

プロテアーゼ活性の結果、上層では廃菌床+緑肥区において活性がみられた。下層では廃菌床区と廃菌床+緑肥区において活性が見られ、廃菌床区が廃菌床+緑肥区より有意に高い値となった。

希釈平板法の結果、下層の細菌・放線菌数については廃菌床区で最も高い値となったが、全ての試験区で有意な差は見られなかった。下層の糸状菌数については緑肥区で対照区と比較して有意に高い値となった。一方、廃菌床区と廃菌床+緑肥区の糸状菌数は対照区と比較して有意差は認められなかったものの高い傾向を示した。

バイオマス炭素の結果、上層では対照区と緑肥区に比べ廃菌床を施用した廃菌床区と廃菌床+緑肥区で有意に高い値となった。下層では緑肥区で最も高い値となったが有意な差は見られなかった。バイオマス窒素の結果、バイオマス炭素同様に上層では対照区と緑肥区に比べ廃菌床を施用した廃菌床区と廃菌床+緑肥区で有意に高い値となった。下層では緑肥区で最も高い値となったが有意な差は見られなかった。

無機態窒素の結果、上層の硝酸態窒素は対照区が有意に高く、廃菌床+緑肥区が有意に低い値となった。上層の対照区に比べ緑肥区で低く、廃菌床区に比べ廃菌床+緑肥区で低く値となった。下層の硝酸態窒素は対照区と廃菌床区が有意に高く、廃菌床+緑肥区が有意に低い値となった。廃菌床+緑肥区では、硝酸態窒素量が他試験区と比較して上層及び下層ともに有意に低下した。上層のアンモニア態窒素は対照区と緑肥区に比べ廃菌床を施用した廃菌床区と廃菌床+緑肥区で有意に高い値となった。さらに廃菌床+緑肥区と比べると廃菌床区で有意に高い値となった。下層のアンモニア態窒素は廃菌床区で対照区と比較して有意に高く、その他の区では有意差は見られなかった。

### 7.2.2. 連作栽培

生育調査の結果、連作の1作目では葉長、葉重量、SPAD値において緑肥区より廃菌床+緑肥区の方が緑肥の生育が有意に増加した。2作目では1作目とは反対に葉長、葉重量、SPAD値において廃菌床+緑肥区より緑肥区の方が緑肥の生育が有意に増加した。3作目では1作目同様に葉長、葉重量、SPAD値、根重量において緑肥区より廃菌床+緑肥区の方が緑肥の生育が有意に増加した。

プロテアーゼ活性の結果、上層では対照区と緑肥区に比べ廃菌床を施用した廃菌床区と廃菌床+緑肥区で有意に高い値となった。下層でも同様に対照区と緑肥区に比べ廃菌床を施用した廃菌床区と廃菌床+緑肥区で有意に高い値となった。また、単作よりも連作の上層で活性が高くなる傾向が見られた。

希釈平板法の結果、下層の全細菌・放線菌数については対照区と緑肥区に比べ廃菌床を施用した廃菌

床区と廃菌床+緑肥区で有意に高い値となった。下層の糸状菌数については廃菌床区で有意に高く、有意差はないものの対照区と緑肥区に比べると廃菌床+緑肥区で高い値となった。

バイオマス炭素の結果、上層では対照区と緑肥区に比べ廃菌床を施用した廃菌床区と廃菌床+緑肥区で有意に高い値となった。下層では緑肥区で最も高い値となったが有意な差は見られなかった。

バイオマス窒素の結果、バイオマス炭素同様に上層では対照区と緑肥区に比べ廃菌床を施用した廃菌床区と廃菌床+緑肥区で有意に高い値となった。下層では廃菌床+緑肥区のみ他の試験区に比べて有意に低い値となった。

無機態窒素の結果、上層の硝酸態窒素は対照区が有意に高い値となった。下層の硝酸態窒素は対照区と廃菌床区が有意に高く、緑肥区と廃菌床+緑肥区が有意に低い値となった。緑肥区と廃菌床+緑肥区では、硝酸態窒素量が対照区と廃菌床区と比較して上層及び下層ともに検出限界値を示した。上層のアムモニア態窒素は廃菌床区で有意に高く、有意差はないものの対照区と緑肥区に比べると廃菌床+緑肥区で高い値となった。下層のアムモニア態窒素は廃菌床+緑肥区で最も高い値となったが有意な差は見られなかった。

## 7.2. 圃場での実証試験（農大圃場、廃菌床投入試験）

コマツナの生育調査結果を表 1、ジャガイモの生育調査結果を表 2、表 3 に示した。

コマツナは 3 つの試験区間で SPAD 値、地上部長、地上部生重量、地上部乾燥重量に有意な差はなかった。ジャガイモは 3 つの試験区間で収穫したイモの個数に大きな差はなかったが、鶏糞堆肥区で規格外のイモが最も少なく、SS サイズ以上の収量が最も多かった。また、廃菌床+1/2 鶏糞堆肥区では規格外のイモが最も多くなったが、各反復の収量に試験区間での有意な差はなかった。地上部の生育は廃菌床+1/2 鶏糞堆肥処理区で他の試験区と比較して最も低かった。

pH(H<sub>2</sub>O)は、ジャガイモ、コマツナの試験区ではいずれの試験区でも 2 週目までに下がり、それ以降上昇していく傾向があった。いずれも廃菌床+1/2 鶏糞堆肥区で他の 2 試験区より pH(H<sub>2</sub>O)が高い傾向があった。可給態窒素はジャガイモ、コマツナのいずれの試験区でも鶏糞堆肥区が他の試験区と比較して低いことが多く、廃菌床と鶏糞堆肥の併用により、土壤中の可給態窒素量が多くなることが分かった。また、特にコマツナ試験区では廃菌床と鶏糞堆肥の併用により、可給態窒素の増加速度が速くなる傾向があった。

表 1. コマツナ生育調査結果

	地上部長(cm)	SPAD値	地上部生重量 (g)	地上部乾燥重量 (g)
廃菌床+鶏糞堆肥	33.19±0.68	36.76±0.91	66.78±4.35	4.09±0.26
廃菌床+1/2鶏糞堆肥	32.35±1.57	37.46±0.41	53.29±4.41	3.50±0.34
鶏糞堆肥	34.33±1.56	37.82±0.49	56.73±5.16	3.91±0.27

平均±標準誤差

各測定項目について、処理区間で Tukey-Kramer 検定 (n=15) を行ったが、有意な差は得られなかった。

表 2. ジャガイモ生育調査結果

	地上部重量 (g/個体)	地上部長 (cm)	収量 (kg/10a) *
廃菌床 + 鶏糞堆肥	303.1 ± 16.6 <sup>a</sup>	37.0 ± 1.9	3062.4
廃菌床 + 1/2鶏糞堆肥	242.3 ± 17.4 <sup>b</sup>	36.5 ± 1.5	2745.4
鶏糞堆肥	330.4 ± 11.4 <sup>a</sup>	37.5 ± 1.1	3501.4

平均 ± 標準誤差 (n=12)

各測定項目の処理区間で異なる英小文字は有意水準 5 % で差があることを示す (Tukey-Kramer検定)。

\*: 各反復(n=3)のジャガイモの10aあたり平均収量 (規格外を除く)

表 12. ジャガイモの全重量及び階級別の個数 (JA 全農ひろしま参照)

(個数/2.4m <sup>2</sup> )	廃菌床 + 鶏糞	廃菌床 + 1/2鶏糞	鶏糞
3L	3	3	4
2L	9	4	9
L	15	19	20
M	13	17	17
S	16	10	9
SS	13	4	13
規格外	20	24	15
計 (個数/2.4m <sup>2</sup> )	89	81	87
SS~3L全重量 (kg/2.4m <sup>2</sup> )	7.3	6.6	8.4

2.4m<sup>2</sup>: 各処理区 1 反復面積 (0.8m<sup>2</sup>) を 3 反復分合計した。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

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

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

宮古土壌及びブラジル土壌の不攪乱コア栽培試験で得られた土壌試料から土壌微細形態観察試料を作製しており、今後は土壌微細構造の結果を明らかにし、土壌型で異なる傾向があるかどうか検討する。

また、ブラジル土壌において、土壌微生物多様性解析、土壌酵素活性、トウモロコシ根のアーバスキユラー菌根菌感染率、土壌の化学性分析及び物理性分析を予定している。

実証試験については、神奈川県平塚市のいかす圃場で引き続き実証試験を行っている。ブラジルサンパウロ州の圃場においても実証試験を 2020 年頃より開始しており、土壌調査を行う予定である。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

なし

学会発表

- 1) Hiroko Nakatsuka, Arisa Noguchi, Elke J.B.N. Cardoso. 2022. Effect of spent mushroom substrate (*Lentinula edodes*) and plant roots (*Zea mays* var. *indentata*) on subsoil microstructure in Andosols, Japan. Poster-11B, I REUNIÃO BRASILEIRA DE MICROMORFOLOGIA DE SOLOS. 12-13th, Nov., 2022. ESALQ-USP.
- 2) Hiroko Nakatsuka, Denise de Lourdes Colombo Mescolotti, Antonio Marcos Miranda Silva, Arisa Noguchi, Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso. 2023. Spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* increases soil enzyme activities, glomalin content and maize biomass. Número do Pôster 47, V Simpósio de Microbiologia Agrícola: "Aplicações e perspectivas para agricultura do future". 11-14th, April, 2023. ESALQ-USP.

# 2022年度 東京農業大学 博士支援テーマ重点化プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 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)
排卵後の卵管内 miRNA はウシ初期胚の発生に重要な変化を支持する	3,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	岩田 尚孝	農学部 動物科学科・教授	研究統括
研究分担者	青木 漱吾	農学研究科 動物科学専攻・博士後期課程2年	研究全般

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

体外発育した胚は受胎率が低くエピゲネティックな変化が確認されている。この原因は、胚発生が行われる卵管因子にあると考えられる。体外発育した胚は、受精後の脱メチル化が低調であり、胚盤胞でも全体として高メチルな胚となる。また核のリプログラムや脱メチル化を支援する培養環境の構築は未だ不十分である。体外で胚を作成する時に、現在の方法に加味されていない要因としては排卵時に卵管に大量に流入する卵胞液がある。また、これまでに miRNA が卵子の発育に大きな影響を与えることが知られているが、この卵胞液には大量の miRNA が含まれているが受精後の初期胚に対する影響は不明である。

## 5. 研究目的

卵管に存在する miRNA が胚発生の重要なイベントを制御しているという仮説に対して最初に卵胞液が初期発生に及ぼす影響を把握する。次に卵胞液の miRNA と卵管の miRNA そして体内発生胚と体外発生胚の遺伝子発現から添加候補として選定した miRNA の効果を検討する。最後に miRNA の効果の背景を検討すると同時に卵胞液の質を miRNA から評価する。

## 6. 研究（実験）方法

最初に卵胞液を受精後の培地に受精後 18 時間（前核期）から 30 時間添加し初期胚と胚盤胞期胚の DNA

のメチル化を免疫染色で比較した。次に関連タンパク質発現差を比較した。卵胞液から抽出した細胞外小胞を培地に添加して同様に検討した。卵胞液と細胞外小胞を添加した培地で発育した初期胚を RNAseq に供し、その効果の分子背景を把握した。

次に大卵胞液と卵管液の smallRNAseq から候補の miRNA として miR-29b と miR-199a-3p を選び Dual Luciferase assay でその働きを確認し、さらに Cy-3 付加 miRNA を顆粒層細胞に取り込ませて培地に細胞外小胞の形で分泌させ、集めた細胞外小胞と胚の共培養で miRNA が胚に取り込まれるのか検討した。miR-29b と miR-199a-3p は卵胞液と同様に培地に添加しその発生に及ぼす効果を Control mimic と比較した。またこれらの miRNA の初期胚のメチル化と DNMTs に及ぼす影響を確認した。

また卵胞液の個性が初期胚の能力に影響するのかを検討するため卵胞液を内包する卵子の能力を基に分画して Good と Poor 卵胞液を作成し、同様に初期発生培地に添加して胚発生に及ぼす影響を比較した。Good と Poor の smallRNAseq から両者に差のある miRNAs(miR-425-5p, miR-151-3p)を同定し、上記と同様に効果を確認した。差のある miRNA を培地に添加して胚発生に及ぼす影響を確認した。また、ターゲットとなる遺伝子群から働きを予測した。

## 7. 研究成果

卵胞液の添加は 8 細胞期胚および胚盤胞における核の DNA メチル化状態を低下させた。初期胚の DNMT3A と DNMT1 のタンパク発現量も減少していた。一方で初期胚の脱メチル化に重要な役割を果たすと報告されている TET3 は変化がなかった。細胞外小胞の添加も同様に初期胚の DNA メチル化を低下させた。RNAseq では卵胞液で 1986 個、細胞外小胞で 1434 個の変動遺伝子が得られ、両者で共通して関連付けられる Pathway では Endocytosis や TGF-beta-signaling があつた。また共通して変動する遺伝子としては ACTB, VIM, LMNA 等の細胞や核の骨格や SETD5, SUV39H1, KDM4A 等のメチル基転移酵素の発現が低下することが明らかになった。

miR-29b と miR-199-3p は Dual luciferase assay でターゲット配列に正確に機能することが確かめられた。また標識済み miRNA は細胞に取り込まれた後細胞外小胞として分泌され胚に取り込まれることが明らかになった。これらの miRNAs は培地に添加すると胚発生を有意に促し、さらに初期胚では DNA のメチル化状態を低下させた。また DNMT3A の発現を有意に低下させた。また Good と Poor 卵胞液は無添加に比べて胚発生を増加もしくは減少させた。Good 卵胞液に有意に多く発現している miRNA で一番濃度の濃かった 2 つを選び(miR-151,-425)で、培地に添加すると胚発生を有意に促すことが明らかになった。これらの研究から受精後の初期胚に対して低濃度の卵胞液はその脱メチル化を促すことさらに卵胞液の質や miRNA の構成が胚発生に影響する事が明らかになった。またこの働きを卵胞液中に高濃度で含まれている miRNA が担っていることが示された。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

卵胞液の成分が受精後起こる広範囲な脱メチル化を促すことやその役割の少なくとも一部を miRNA が担っていることは、今後胚のリプログラミングの理解を進める上で重要な発見であると考えられる。また細胞で全能化するプロセスでアクチンやビメンチンそしてラミニンといった核や細胞の骨格の主成分が減少することが報告されており本研究度で同様に見られた事象は細胞や核構造の変化と核内の脱メチル化に関係があることを示唆している。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

成果の一部は論文化しているが残りの部分を国際誌に投稿準備中である。卵胞液の miRNA 以外の成分に脱メチル化を促す働きがあるのかどうか検討する。受精後の脱メチル化が促進された初期胚から発生した胚の能力が体内胚のそれに近づいているのかの検討が必要である。また初期胚の脱メチル化を促す分子機序をさらに明らかにしていく必要がある。またこのような機序を胚作成の常法に外挿していく必要がある。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) **Aoki, S.**, Inoue, Y., Shinozawa, A., Tanaka, K., Shirasuna, K., & **Iwata, H.** (2022). miR-17-5p in bovine oviductal fluid affects embryo development. *Molecular and cellular endocrinology*, 551, 111651.

### 学会発表

- 1) **青木 漱吾**, 井上裕貴, 伊藤洵, 原駿介, 濱崎真緒, 隈本宗一郎, **岩田尚孝**. 「ウシ卵胞液に含まれる miRNA は初期胚発生を改善する」第 115 回日本繁殖生物学会大会, 東京, 2022 年 9 月 14 日, 口頭発表
- 2) **青木 漱吾**, 井上裕貴, **岩田尚孝** 「卵胞液中の miRNA は卵子の胚発生能力の優劣を決定する」第 131 回 日本畜産学会, 帯広, 2023 年 9 月 18 日
- 3) **青木 漱吾**, 井上裕貴, **岩田尚孝** 排卵後の卵管内 miRNA はウシ初期胚の発生に重要な DNA の脱メチル化を支持する 第 46 回 分子生物学会 神戸 2023 年 12 月 9 日
- 4) **Sogo Aoki**, Yuki Inoue, Shunsuke Hara, Jun Itou, **Hisataka Iwata**, Specific miRNAs in bovine follicular fluids underlying background of good blastocyst yields. 21th ISIVF2023(世界体外受精会議) 2023 年, 1 月 2 日



# 2022年度 東京農業大学 博士支援テーマ重点化プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 佐々木 康幸

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
<i>Streptomyces</i> 属における新規シグナル伝達を基盤とした形態分化制御機構の解析	3,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	佐々木康幸	生命科学部 バイオサイエンス学 科・准教授	統括、NO 生化学、蛋白質機能 解析
研究分担者	矢嶋 俊介	生命科学部 バイオサイエンス学 科・教授	蛋白質機能解析、RNA シーケン ス
	本間 颯太	農学研究科 バイオサイエンス専 攻・博士後期課程3年	遺伝子組換え、ChIP-seq

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

放線菌は抗生物質をはじめとした極めて有用な二次代謝産物を多く生産するのに加え、カビのように糸状に生育し孢子を形成する複雑な形態分化を示す特徴的な細菌群である。その一方、*Mycobacterium* 属、*Nocardia* 属など病気の原因となる放線菌も多く知られている。そのため、本菌群において、二次代謝および形態分化の制御機構を理解する事は、産業面の臨床面にも重要な意味を持つ。しかし、本菌群の代謝制御機構の詳細な分子作用機構は未だ全て明らかになっていない。申請者らは、放線菌 *Streptomyces coelicolor* が内在的に窒素酸化物を合成し、硝酸還元酵素 (Nar) とフラボヘモグロビン (Fhb) を介して順次循環させている事を見出した。

## 5. 研究目的

申請者らの研究により、本循環経路から生産される一酸化窒素 (NO) は、二成分制御系を介して抗生物質生産を制御している新しいシグナル分子である事が明らかとなり、これまで未解明であった本菌群の代謝制御機構の全貌解明への期待を高めている。そこで、近年、放線菌において着目されているものの未解明な点が多い NO による形態分化制御機構の解明を目的とした。

## 6. 研究（実験）方法

気中菌糸形成の必須因子と考えられてきた *WblA* に着目した 2021 年度の研究において、NO 生産活性が著しく減少した時、*WblA* をコードする遺伝子を欠損していても気中菌糸を形成する事が見出された。さらに、NO 低生産変異株である  $\Delta nar$  株は、野生株 (M145) よりも短い培養時間で気中菌糸を形成する事が本培養条件においても確認された。これらの結果から、細胞内 NO が *WblA* 以外の調節因子を介して気中菌糸形成を制御する事が示唆された。そこで、2022 年度の研究では、NO 低生産変異株における早期の気中菌糸形成の促進現象を解析することで、NO による気中菌糸制御機構を解明する研究計画を立てた。

① 2021 年度の研究により、NO 依存性気中菌糸形成関連遺伝子 *bldM* の単離に成功した。そこで、2022 年度では *bldM* の発現による気中菌糸形成への影響について検証するために、NO 低生産変異株である  $\Delta nar$  株における *bldM* の欠損株を作製し、その表現型を調べた。加えて、*bldM* 過剰発現株を用意し、本遺伝子の発現を誘導した時の表現型も確認した。

② これまでの研究により、*bldM* の発現は cyclic di-GMP 依存性転写制御因子 BldD により直接抑制されることが明らかになっている。本菌における NO と BldD の関連性を検証するために、M145 株と  $\Delta nar$  株を宿主とした BldD-FLAG 発現株を作製し、細胞内における BldD-FLAG タンパク質と *bldM* プロモーター領域 (*bldMp*) の相互作用についてクロマチン免疫沈降法と qPCR を併用することで調べた。

③ BldD の DNA 結合活性を制御する cyclic di-GMP 量を M145 株と  $\Delta nar$  株で比較した。

④ M145 株と比較して  $\Delta nar$  株で発現が顕著に変動する気中菌糸形成関連遺伝子を RNA-seq を用いて網羅的に調べた。

## 7. 研究成果

① NO 低生産変異株である  $\Delta nar$  株の早期の気中菌糸形成は、*bldM* 遺伝子の欠損により見られなくなった。また、*bldM* の過剰発現は、M145 株の気中菌糸を促すことが確認された。これらの結果から、本培養条件における気中菌糸形成制御において *bldM* の発現は重要であることが示唆された。

② M145/*bldD-FLAG* で確認された BldD-FLAG と *bldMp* の相互作用は、 $\Delta nar$ /*bldD-FLAG* 株で有意に減少することが明らかとなった。さらに、NO 発生剤存在下で培養した  $\Delta nar$ /*bldD-FLAG* 株における本相互作用は有意に増大することを確認した。これらの結果から、NO は BldD-FLAG と *bldMp* の相互作用の制御に関与することが示唆された。

③ ②の研究結果より、NO は BldD の DNA 結合活性調節に関わる cyclic di-GMP 量の制御に関わる可能性が考えられた。そこで、M145 株と  $\Delta nar$  株における継時的な cyclic di-GMP 量を比較した結果、 $\Delta nar$  株では有意に減少する培養時間が複数存在し、これは NO 発生剤存在下で  $\Delta nar$  株を培養した時回復することが明らかとなった。これらの結果から、細胞内における NO と cyclic di-GMP の密接な関連性が示唆された。

④ RNA-seq の結果から、 $\Delta nar$  株においていくつかの形態分化関連遺伝子は高発現していることが明らかとなった。これらの遺伝子は BldD レギュロンに含まれるものであったため、①-③の研究で見出された「NO による cyclic di-GMP 量調節を介した BldD の DNA 結合活性の制御」によって、これらの遺伝子の発現が促進されたことが考えられた。今回、BldD レギュロン以外の新しい NO 依存性気中菌糸形成関連遺伝子は発見できなかった。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

2022年度の研究では、実用に向けた具体的な検討を行っていない。しかしながら、*S. coelicolor*の形態分化制御においてNOシグナル伝達は非常に重要なシステムであることが明らかとなったので、病原性放線菌の生育制御などを含む臨床戦略の確立に今回の研究成果は役立つことが期待できる

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今回の研究により、細胞内におけるNOとcyclic di-GMP量の密接な関連性が示唆されたが、NOによる細胞内cyclic di-GMP量の制御機構の詳細は不明である。そのため、今後、本菌で生産されるヘム含有型のcyclic di-GMP合成酵素および分解酵素とNOの相互作用について研究を展開すべきである。

RNA-SeqによるNO依存的な気中菌糸形成関連遺伝子の探索は、今回の実験内容のみでは不十分であるため、今後更なる解析が必要である。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) **Sota Honma**, Shinsaku Ito, **Shunsuke Yajima**, **Yasuyuki Sasaki**. Nitric Oxide Signaling for Aerial Mycelium Formation in *Streptomyces coelicolor* A3(2) M145. *Appl Environ Microbiol* 88, 01222-22 (2022).
- 2) **Sota Honma**, Shinsaku Ito, **Shunsuke Yajima**, **Yasuyuki Sasaki**. Role of DevR phosphorylation in nitric oxide homeostasis and signaling of *Streptomyces coelicolor* A3(2) M145. *FEMS Microbiol Lett.* 370, fnad060 (2023).

### 学会発表

- 1) **本間 颯太**, 伊藤 晋作, **矢嶋 俊介**, **佐々木 康幸** 「放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) M145 株におけるNOシグナル伝達を基盤とした形態分化制御機構の解明」日本農芸化学会関東支部大会、2022年8月 (**若手口頭発表部門 優秀発表賞**)
- 2) **本間 颯太**, 伊藤 晋作, **矢嶋 俊介**, **佐々木 康幸** 「放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) M145 株におけるNOによる形態分化制御機構の解明」日本放線菌学会、2022年9月
- 3) **Sota Honma**, Shinsaku Ito, **Shunsuke Yajima**, **Yasuyuki Sasaki** 「Nitric oxide signaling for aerial mycelium formation in *Streptomyces coelicolor* A3(2) M145」国際NO学会、2022年10月 (**Travel award**)
- 4) **本間 颯太**, 伊藤 晋作, **矢嶋 俊介**, **佐々木 康幸** 「放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) M145 株における一酸化窒素を基盤とした形態分化制御機構」日本農芸化学会、2023年3月

# 2022年度 東京農業大学 博士支援テーマ重点化プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 岡澤 宏

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
UAV 空撮画像に基づいた作物高・植被率・植生指数による作物生育の総合評価手法の開発	3,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	岡澤 宏	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	研究指導, 統括
研究分担者	張 可	農学研究科 農業工学専攻・博士後期課程3年	データ収集, 解析, 取りまとめ
	関山 絢子	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	画像解析技術の提案
	島田 沢彦	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	画像解析技術の提案
	菊野日出彦	国際情報科学部・教授	植物管理, 観測の助言
	マスケ・サラベス	地域環境科学部 生産環境工学科・助教	植物管理, 観測の助言
	伊藤 博武	生物産業学部 北方圏農学科・教授	植物管理, 観測の助言

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

農業分野における UAV の利活用がここ 10 年で急速に広まっている。そして、広大な面積を有する圃場では、農薬散布、肥料散布といった農作業に利用されている。また、UAV に搭載されたカメラによって植物体の色やマルチスペクトルカメラを利用することで植物体の活性度（NDVI など）を広域的に把握することが農家レベルでも実施可能となっている。一方で、UAV 画像の 2D での活用が進んだことによって植物体の詳細な成長過程を広域的に知ることが可能となったが、今後は 3D 画像の利活用による植物体の立体構造を知ることにより細部にわたる作物生育評価のニーズが農家レベルで求められている。これは、UAV 画像を統合して 3D 画像を作成することができる Photogrammetry 技術に必要なソ

ソフトウェアの進歩によるものである。しかし、3D 画像を活用した植生の計測事例は未だに位置情報の正確性に関する検討が不十分であり、農家レベルでの実用化には至っていない。これには正確な位置情報を必要とする GCP の設置に関する規定があいまいなことによる。また、植物の生育は初期から中期にかけて身長が伸び、その後は身長の成長が止まり、葉などが横方向に生育する 2 つのステージに分けることができる。しかし、これまでの研究成果では UAV によって作物の身長の計測はできる可能性を示せたものの、横方向の評価である植生被覆率 (Canopy Cover ; CC) や葉面積指数 (Leaf Area Index ; LAI) の計測の可能性については十分な検討が進んでいないことから、UAV 画像による植物の立体構造を知るには未だに課題が多い。もし、これら 2 つの成育ステージにおいて UAV 画像の利用から植物の成育評価が可能になれば、農業分野における作物生育評価の利用促進に大きく寄与することができる。これには、UAV 画像を用いた初期ステージの草高を評価する手法の検討を行い、Digital Surface Model (DSM) データと 3D 点群データの比較から植物の成育評価を試みる必要がある。

## 5. 研究目的

前述の課題に対して、本研究では 2D 画像に加えて 3D データを活用することで作物体の成育情報がより詳細にモニタリングできる手法の構築を目指す。具体的には、UAV 画像による取得画像の位置精度をより正確にできないか、また UAV 画像による植物体の身長 (草丈) は茎葉形態に依存せず十分に計測可能か、さらにこれまでは破壊試験で測定していた植物体の地上体積部 (Canopy Volume) や被覆率 (Canopy Cover) のモニタリングを計測が簡単な NDVI で代用できないか、最後に農地には土壌や植物やマルチシートに使われるプラスチックなどがあることから、これらの情報を自動的に判別することでより植物体のみを画像から抽出することで正確な植物生育評価ができないか、といったリサーチクエスチョンを設定した。そのため、本課題は、農地における UAV 空撮画像の最適な位置補正方法、作物高と地上部体積の推定方法の検討と比較、植生指数と作物被覆率の関係、そして農地内の地物判別という四つの視点から UAV 空撮画像の農地への利用方法を統合的に検討した。これらを検討することにより、UAV 空撮画像に基づいた植生成育の新たな評価手法を確立することを目的とした。

## 6. 研究 (実験) 方法

本研究では、UAV 画像による取得画像の位置精度をより正確にできないかの問いに対して、農地における最適な GCP の設置条件を提案するために、北海道帯広市内に位置する 16 ha の圃場において、12 個の GCP (検証点) および 20 個の Check Point (検証点) を設置し、それぞれのポイントの位置情報 (緯度・経度・標高値) を RTK-GNSS により測量した。RTK-GNSS 測量の精度は 0.02 m 以内とされており、これによって農地においても精密な位置座標を得ることができ、この位置情報から画像の位置精度を検討することとした。GCP の数・分布形状が異なる 88 個の GCP パターンを用いて UAV の空撮画像に対して位置補正をおこない、Check Point を用い補正精度を比較検証した。なお、本解析には独自に設定した GCP 分布指数 (GCP Distribution Index, GDI) を用いた。

$$GDI = \text{Number}_{\text{GCP}} \frac{\text{Area}_{\text{GCP}}}{\text{Area}_{\text{whole}}} \quad (1)$$

ただし、 $\text{Number}_{\text{GCP}}$  は GCP の個数、 $\text{Area}_{\text{GCP}}$  は GCP で囲われた面積 ( $\text{m}^2$ )、 $\text{Area}_{\text{whole}}$  ( $\text{m}^2$ ) は対象調査地全体の面積である。

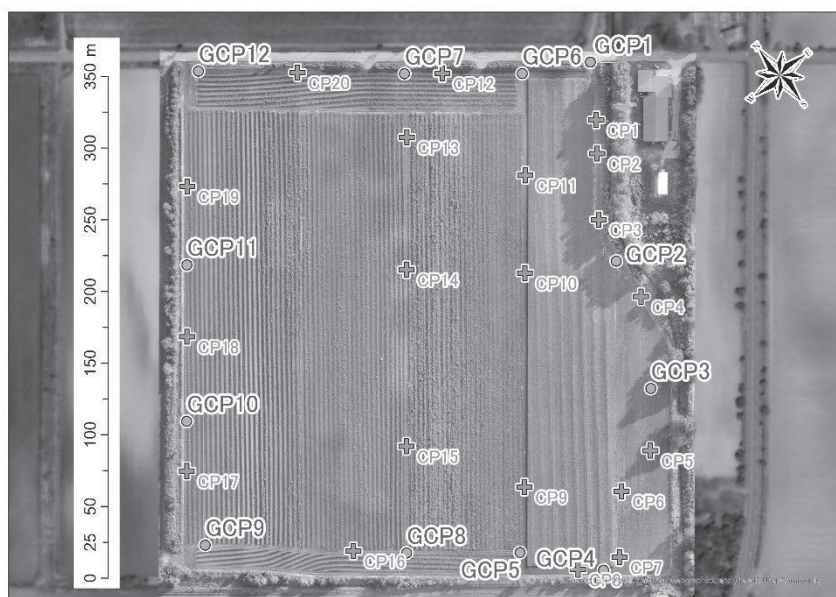


Figure 1. Detail of the Study Site

次に、UAV 画像による植物体の身長（草丈）は茎葉形態に依存せず十分に計測可能かとの問いに対して、異なる茎葉形態を持つ作物として単子葉植物であるエンバクとリードカナリーグラス、双子葉植物であるバレイショとエゴマを対象に、UAV 空撮画像による DSM データに基づいた作物高の計測精度を検討した。これらの植物が栽培されている帯広市の圃場（帯広畜産大学の実験圃場）において UAV による DSM データを継続的にモニタリングするとともに、スケールを用いて植物の身長（草丈）を計測し、これらのデータを比較することで、作物の茎葉形態が作物高（草丈、身長）の推定精度に与える影響を検討した。

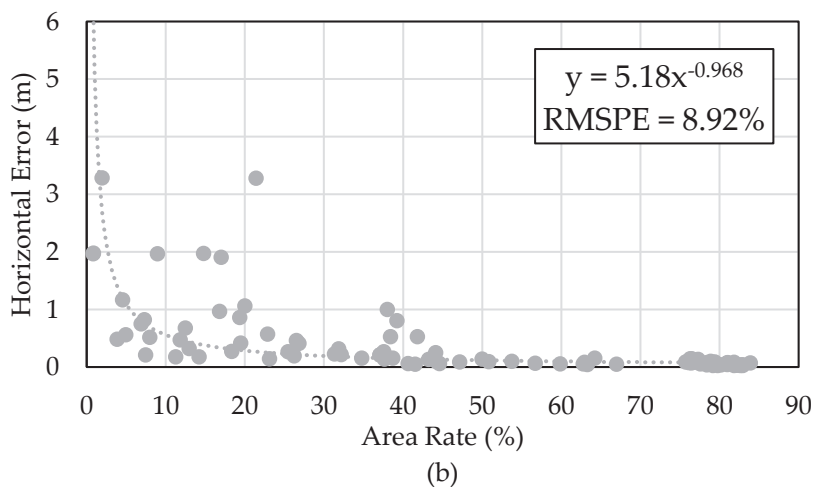
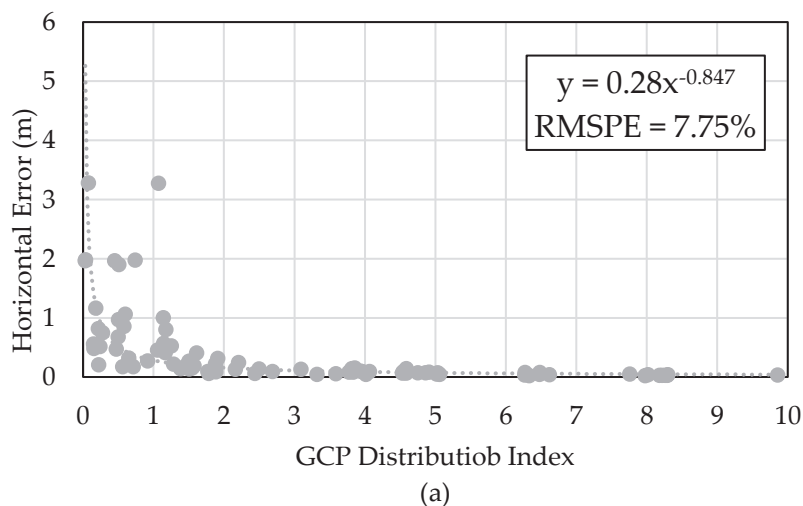
さらにこれまでは破壊試験で測定していた植物体の地上体積部 (Canopy Volume ; CV) や被覆率 (Canopy Cover ; CC) のモニタリングを計測が簡単な NDVI で代用できないかとの問いに対して、DSM データと 3D 点群データを活用することで作物の地上部体積 (CV) を PC 上で求めることができると考えた。一般的に正確な CV を知るには植物体を破壊して葉の面積や茎の体積を計測する必要がある。ここでは作物生育ステージにおいて継続的に UAV で 3D 画像を取得することで、植物を破壊することのない非破壊な状態で CV を継続的にモニタリングができないかを検討した。本研究では、DSM と 3D 点群データからそれぞれ求めたリードカナリーグラスの地上部体積を比較することで、それぞれの方法が CV の推定に及ぼす違いを検討した。さらに本研究では、同圃場において生育過程で詳細な計測が極めて難しい CC を UAV 画像から計測できないかを検討した。つまり、比較的簡便に取得できる 2D 画像である NDVI を活用し、NDVI から CC を推定することで非破壊な植物の CC モニタリングができないかを検討した。UAV 画像を 0.5 m、1.0 m、2.5 m、5.0 m、10m の 5 種類の地上解像度にリメイクして、異なる地上解像度における NDVI と CC の関係を検討した。これによって、これまでに多くの蓄積があるが解像度が極めて大きい衛星画像を活用した新たな植物生育評価が行えると考えられる。

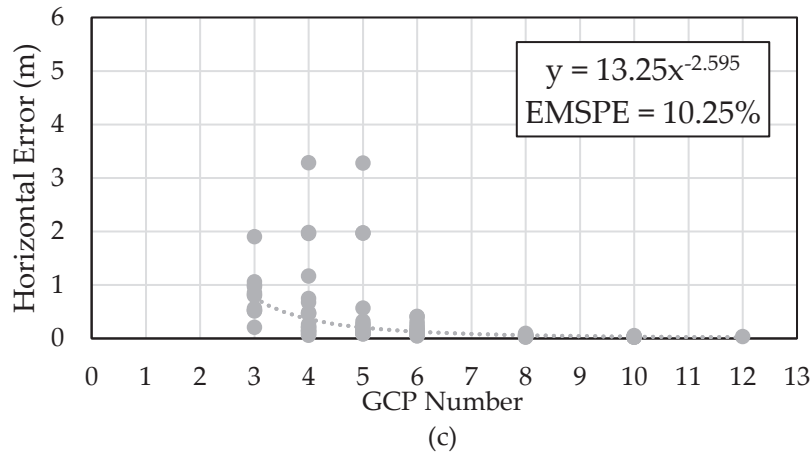
最後に、植生・資源や廃棄物等多様な地上物の自動判別は、農地や農村地域の環境および統合資源管理の上重要である。そこで、これらを自動的に判別することでより植物体のみを画像から抽出することで正確な植物生育評価ができないかを検討した。本研究は帯広畜産大学の実験圃場において小型 UAV により空撮を行い、RGB 画像およびマルチスペクトル画像を取得し、三種類の自動分類方法 (A.NDVI 閾値法 ; B.RGB 画像機械学習法 ; C.オブジェクトベース画像解析 (OBIA) 法) により地物判別を行い、そ

それぞれの方法が適す対象地物を検討した。

## 7. 研究成果

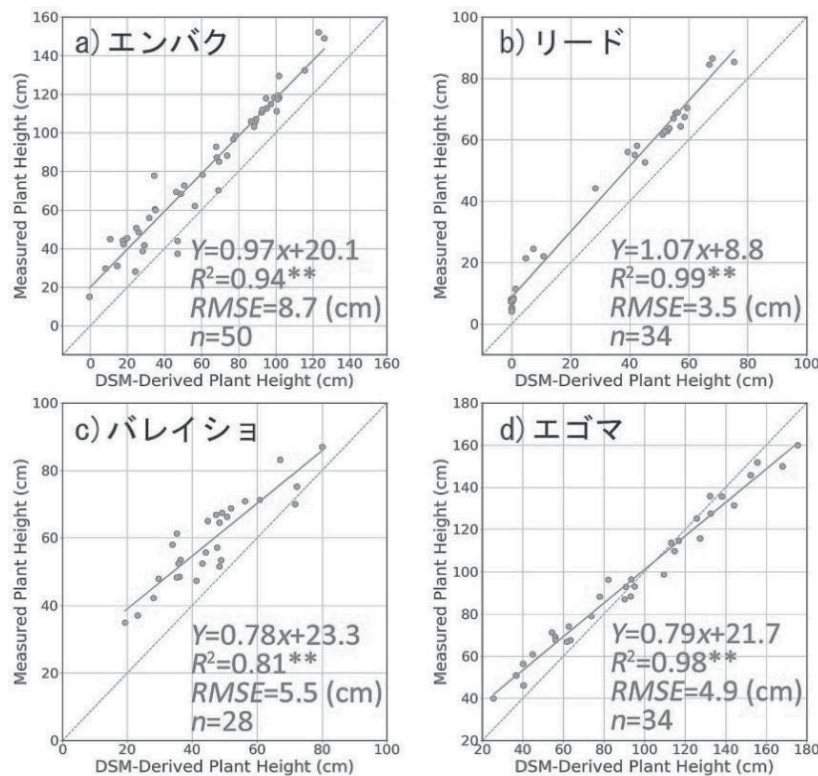
GCP の最適設置方法に関しては、対象圃場において均等分布するパターンが最良のキャリブレーション (RMSE=0.15m) を提供できることがわかった。障害物・圃場の条件などにより上記の分布が実現できない場合には、圃場の半分において均等分布する長形状の GCP パターン、または圃場の三辺に均等分布する三角形の GCP パターンは適度な補正精度 (それぞれ RMSE=0.18m, 0.43m) を達成できることもわかった。一方、GCP が直線状になるパターンは GCP の数が多いにもかかわらず最低の補正精度 (RMSE=2.10m) をもたらした。このことから、縦横比のバランスが比較的均等的な二次元形状 (長方形・三角形等) になっている GCP パターンは、直線状の GCP パターンより補正効果が良いことがわかった。本研究はさらに、GCP 分布指数 (GCP Distribution Index, GDI) という指標を提案し、GCP の数および分布形状をともに考慮して GCP の補正精度を推定する方法を提案した。Figure 2 に示しているように、GDI は GCP 面積および GCP の個数より正確に GCP の補正精度を評価できることがわかった。本研究の結果は、農地等内部に進入困難な調査地における UAV 空撮調査のための GCP の最適な設置方法を提案し、UAV の農業現場でのより効率的な活用に貢献したと考えられる。





**Figure 2. Relationship between the factors describing GCP distribution: (a) GDI; (b) Rate of area surrounded by GCPs; (c) Number of GCPs.**

UAV 空撮画像を用いた作物高の推定に関しては、葉身が卵形で茎葉が繁茂しているエゴマに対して最高の推定精度 ( $R^2 = 0.97$ ,  $RMSE = 5\text{cm}$ ) が得られ、茎葉が繁茂するほど DSM による推定作物高の精度が高いことがわかった。全期間における推定作物高と実測値の回帰方程式を比較した結果、単子葉植物に対して推定値は常に実測値と一定の差を保つ一方、双子葉植物に対しては生育初期において推定値は実測値より低く、作物の成長につれ実測値に近付き、最終的に作物高が 1m 以上実測値を上回ることがわかった。これらの結果から、DSM データを用いて作物高を推定する際には該当作物に適切は回帰方程式で DSM 値を補正する必要があることがわかった。さらに、本研究は四種類の常用作物の全生育期間における作物高の推定式を提供することにより、今後の DSM による作物生育モニタリングのための基礎資料を蓄積することができた。



**Figure 3. Comparison of Estimation Accuracy for Different Crops**



一方、3D 点群データは、作物高の推定において点群データより高い精度（それぞれ RMSE=4 cm、3 cm、推定式の切片 Intercept=8.8 cm、-0.16 cm）が得られ、3D 点群データを用いて作物高を推定するには回帰方程式の補正が不要であることがわかった。したがって、作物の正確な高さや倒伏情報が必要な場合は 3D 点群データが適切であることがわかった。一方、DSM データと 3D 点群データによる地上部体積の推定値は、全生育期間において有意差が確認できなかった。このことより、地上部体積の推定は二種類のデータが同じパフォーマンスを持っており、実用性を考慮すると DSM データが適切であることがわかった。本研究は異なる目的に応じた UAV 空撮データの種類を提案することにより、UAV 空撮の農業への実利用に貢献したと考えられる。

また、圃場内の植被率 (CC) と NDVI の関係については、NDVI は 0.5 m, 1.0 m, 2.5 m, 5.0 m, および 10 m の地上解像度において植生被覆率と強い相関関係（それぞれ  $R^2=0.88^{**}, 0.92^{**}, 0.94^{**}, 0.89^{**}, 0.93^{**}$ ）を持つことがわかった。また、ANACOVA（共分散分析）の結果により、NDVI と植生被覆率の回帰方程式は各種地上解像度において有意差がないこともわかった。以上より、空撮画像の地上解像度は NDVI と植生被覆率の関係に顕著な影響を与えず、NDVI による植生被覆率の推算には衛星画像と UAV 空撮画像の併用性があることが示唆された。一方、各回帰方程式において、回帰係数は 1.0 に近いにもかかわらず、切片は 0.25 であったことから、植生被覆率の値が 0 のときに NDVI の値がマイナスであることが示された。その原因は、圃場内に施用されているプラスチック製のマルチシートが低い NDVI 値を持っていたからと考えられる。このことから、同じピクセル内に混在する作物と土壌以外の地物は NDVI と CC との正確な関係を求める際に悪影響になることがわかった。今後の研究では、UAV 空撮画像の高解像度特性と十分に利用し、作物の生育評価指標を正確に計測するために農地内の地物判別が重要な課題となると考えられる。

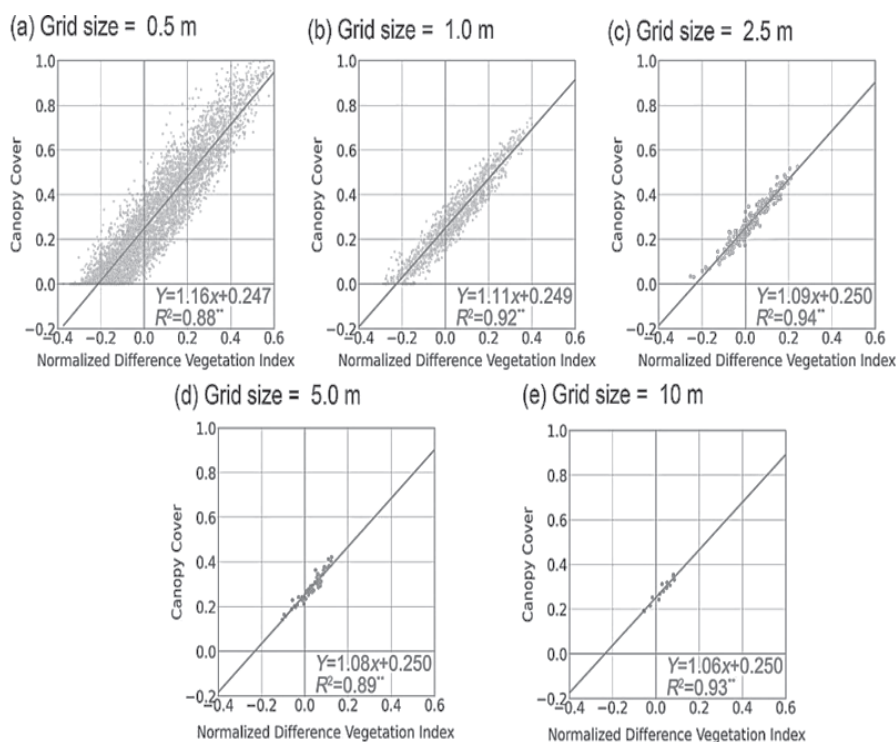


Figure 4. Relationship between NDVI and CC in each grid size

最後に、NDVI 閾値法は処理過程が簡単であり効率性が良く、植生と土壌を高精度で識別できたが、衰弱植生やプラスチック製品と金属製品の識別では精度が低かった。RGB 法と OBIA 法は両方とも教師

あり機械学習を適応しており、画像処理にあたり時間と労力が必要だったが、植生、土壌、プラスチックおよび金属の分類に非常に高い精度が得られた。具体的に、RGB 法は全体精度が最も高く、特にプラスチック製のブルーシート等明るい色の地物の識別に優れているが、衰弱植生をそれと類似した色の土壌として分類する傾向を示した。一方、OBIA 法は近赤外域のデータを使用したため、土壌と衰弱植生等視覚的に類似した地物の識別に高いパフォーマンスを示したが、総合的な分類精度は RGB 法よりわずかに低かった。これらの結果は、UAV 地物判別の対象物に合った適切な方法を選択するのに役立ち、農地や農村地域の統合資源管理の改善に貢献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

本研究の成果は国際誌である MDPI sustainability (IF 値 3.889) に 2 報が掲載された。特に GCP の研究論文は閲覧者が 2200 と多く、被引用論文も 6 編に達している。このことから、学術的に応用性の高い、また注目のある論文となった。また、研究グループメンバーは次年度も本研究の一部を継続する必要であり、研究成果は UAV による植物体の成育モニタリングに活かされると考えられる。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究で提案された GCP 分布指数 (GDI) の異なる条件下 (圃場の形状, 標高差) における応用性を検討する必要がある。DSM データにより推定された作物高の精度を向上させるために、多種類の作物を対象とする推定モデルを作成し、基礎資料として蓄積する必要がある。UAV 空撮画像を用いて NDVI と植被率をより正確に推定するためには、より複雑な地物が存在する圃場において UAV 空撮画像を用いた地物分類を行い、分類手法を比較検証する必要がある。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Ke Zhang, Ayako Sekiyama, Hiromu Okazawa, Yuri Yamazaki, Kiichiro Hayashi, Osamu Tsuji, Masahiro Akimoto. 2022. Comparison of Crop Surface Models and 3D Point Clouds by UAV Imagery on Estimating Plant Height and Biomass Volume of Pasture Grass. International Journal of Environmental and Rural Development Vol. 13-2, in press.
- 2) Zhang, Ke, Hiromu Okazawa, Kiichiro Hayashi, Tamano Hayashi, Lameck Fiwa, Sarvesh Maskey. 2022. Optimization of Ground Control Point Distribution for Unmanned Aerial Vehicle Photogrammetry for Inaccessible Fields, Sustainability 14, no.15: 9505. <https://doi.org/10.3390/su14159505> (Impact factor: 3.889, 2021 年掲載時)
- 3) Zhang, Ke, Sarvesh Maskey, Hiromu Okazawa, Kiichiro Hayashi, Tamano Hayashi, Ayako Sekiyama, Sawahiko Shimada, Lameck Fiwa. 2022. Assessment of Three Automated Identification Methods for Ground Object Based on UAV Imagery, Sustainability 14, no. 21: 14603. <https://doi.org/10.3390/su142114603> (Impact factor: 3.889, 2021 年掲載時)

### 学会発表

- 1) Muyleang KIM, Ke ZHANG, Sarvesh MASKEY, Ayako SEKIYAMA, Naomasa SUZUKI, Hiromu OKAZAWA, Comparison of Vegetation Indices between NDVI and RGB images in Rice Paddies Using UAV

Imagery, 14<sup>th</sup> International Conference of Environment and Rural Development, 2 to 4 March 2023, Siem Reap in Cambodia.

# 2022年度 東京農業大学 持続可能な農業研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 トウ ナロン

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
有機栽培における微生物燃料電池技術効果の検証	1,700,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	トウ ナロン	地域環境科学部 生産環境工学科・ 准教授	研究全般

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日（3年計画の2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

近年では発酵生産分野において微生物を選択的に活性化させ、生産性を向上させる電気培養技術が着目されている。電気培養技術は好気性と嫌気性に依存せず、電極を通じて電流を流すことで微生物の呼吸に必要な酸化還元物質を供給できる技術である。電気培養技術による微生物の呼吸促進作用や代謝制御作用の効果が確認されているが、発酵生産分野において実用的な応用事例がなく、食料生産分野においても応用事例が報告されていない。

研究代表者は簡易な設備、小労力、かつ効率の高い微生物燃料電池技術（MFCT）の開発に成功しており、MFCTによる堆積物内の硫化水素除去や微生物の活性化、底生生物の生息回復、堆積物の還元性の改善などを明らかにしてきた。また、MFCTは牡蠣養殖場の底質・水質保全や下水方流口付近に堆積する汚泥の浄化に適用されており、実用性の高い技術であると確認されている。MFCTは電気培養技術と多くの共通点があり、電気培養技術と同様に微生物条件の制御効果があると期待できる。これまでの実用的な研究実績から、MFCTは有機栽培における微生物の条件を制御できると確信している。しかしながら、食料生産分野においてMFCTの応用はこれまで検討されていない。

## 5. 研究目的

本研究では土壌内で電子の流れを起こすために、MFCTを拡張した技術（1.5Vの太陽電池を併用したMFCT）を開発し、本技術を適用した有機性土壌（牛糞堆肥を混合した黒ボク土）における作物の生産性の向上を評価することを目的としている（図-1）。具体的には、①養分生成と微生物の活性化（2021と2022年度）、および②作物の成長に対する本技術の働きを解明する（2023年度）。

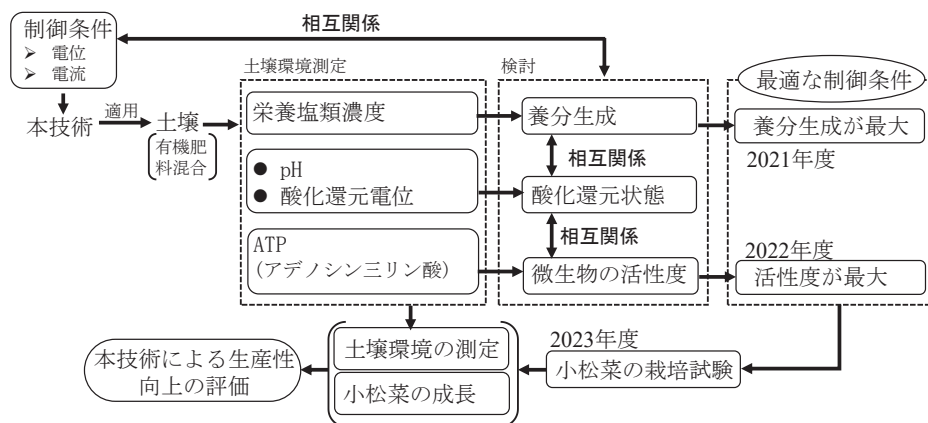


図-1 本研究の大きな流れ

2021年度では、飽和した有機性土壌に本技術を適用したことで、土壌の間隙水において微生物の活性化およびアンモニウムイオンの濃度増加を確認した。なお、リン酸の濃度増加が確認できなかった。リン酸の増加が見られなかったのは本技術に用いた太陽電池の電圧（1.5 V）が不十分であると予想した。また、本技術を適用した土壌が柔らかくなることも確認した。本技術の適用は土壌の生化学的特性にのみならず、物理的特性にも影響を及ぼす可能性があるかと推定した。

したがって、2022年度では有機性土壌内のリン化合物が解離できる太陽電池の最適な電圧（実験①）、最適な電圧を用いたときの土壌内での栄養素の生成分布（実験②）、および本技術の適用による土壌の物理的特性の変化（実験③）を検討することを目的としている。

## 6. 研究（実験）方法

### (1) 実験①の概説

土壌内のリン化合物が解離できる太陽電池（SC）の最適な電圧を検討するために、図-2 に示した装置で実験を行った。まず、容器（直径 12 cm、高さ 15 cm）に 2 cm の土層を作成し、土層上に負電極（還元反应用）を設置した。電極上にさらに 3 cm の土層を作成した。電極に使用した材料は 10 cm×10 cm のカーボクロス（News Company、PL200E）であった。なお、電極性能を向上させるために、カーボクロスを 500℃-2 時間燃焼した後、カーボン繊維電極を作成した（図-2）。制御回路の導線としてチタン線（ニラコ、TI-451465）が用いられた。土層の作成に使用した土壌は牛糞堆肥を混合した黒ボク土であり、混合率（体積ベース）は 47%であった。

次に、水道水で満たされたプラスチックコンテナ（幅 36cm、高さ 3 cm、長さ 51 cm）に電極が設置された容器を静置した（図-2）。コンテナの水面付近に負電極と同様な正電極（酸化反应用）、と Ag/AgCl 参照電極（Toyo、W-RE-7A）を設置した。両電極を SC（Tamiya、1.5 V-500 mA）に接続し、土壌内で還元反応を起こした。異なる回路電圧（1.5、3、6、7.5、9 V）を得るために、SC を直列接続した。

実験開始後、負電極と参照電極を電圧計（T&D、MCR-4V）に接続し、負電極の電位を連続測定した。図-2 に示した回路で両電極を SC に接続し、通電を行った。通電終了後、上層水と 1 cm の表土を取り除き、負電極を土層から取り出した。次に、遠心分離機（アズワン、CN2060）を用いて土壌の間隙水を抽出した（6000 rpm、5 分）。最後に、間隙水中に含まれるリン酸を測定した。リン酸濃度の測定にはパックテスト（共立理化学研究所、DPM2-PO4-D と WAK-PO4(D)）が用いられた。

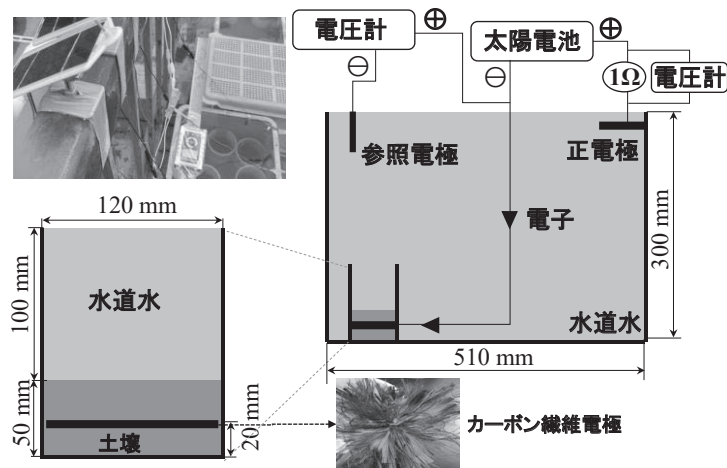


図-2 最適な電圧を検討するための実験装置

## (2) 実験②の概説

実験は図-3 に示した装置で行った。実験に用いた土壌は実験①と同様なものを用いた。土壌に酸化と還元反応用のカーボン繊維電極（図-3c、面積が 0.02 m<sup>2</sup>）を設置し、通電を行った。電極の材料と作成方法、および導線は実験①と同様である。

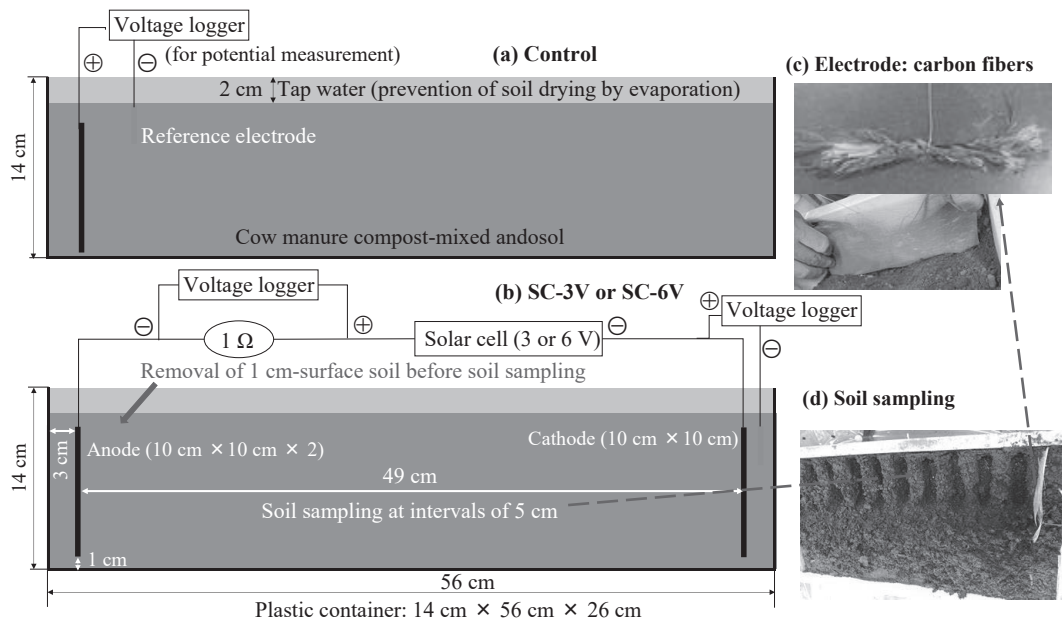


図-3 栄養素の生成分布を検討するための実験装置

通電条件として、両電極を 3V または 6V 太陽電池（Tamiya、1.5 V-500 mA の直列）に接続し、アノードと太陽電池の間に 1 Ω の抵抗を負荷した（SC-3V、SC-6V）条件で実験を行った（図-3b）。通電による効果を検証するために、無通電条件（図-3a）も作成した。

通電してから 2 ヶ月後に上層水と 1 cm の表土を取り除き、土壌を採取した。遠心分離機（アズワン、CN2060）を用いて土壌の間隙水を抽出した（6000 rpm、5 分）。抽出した土壌の間隙水に含まれる栄養塩類（NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、K<sup>+</sup>）の濃度を測定し、通電に伴う養分生成を検討した。PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>濃度の測定にはパックテスト（共立理化学研究所、DPM2-PO4-D と WAK-PO4(D)）、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度の測定にはパックテスト（共立理化学研究所、DPM2-NH4 と KR-NH4-4）が用いられた。一方、K<sup>+</sup>濃度の測定には K<sup>+</sup> メーター（Horiba、

K-11)が用いられた。

### (3) 実験③の概説

本技術の適用による土壌の物理的特性の変化を検討するために、**図-4** に示した装置で実験を行った。実験手順は実験①のものと同様であるが、太陽電池の代わりにポテンシostat (Hokuto、HA-151B) を使用した。これは、回路電流を一定 (4、6、8、10 mA の7日間) に固定したためである。実験終了後、遠心分離法の保水試験や変水位透水試験などを行い、固定電流と保水性と透水性との関係を検討した。

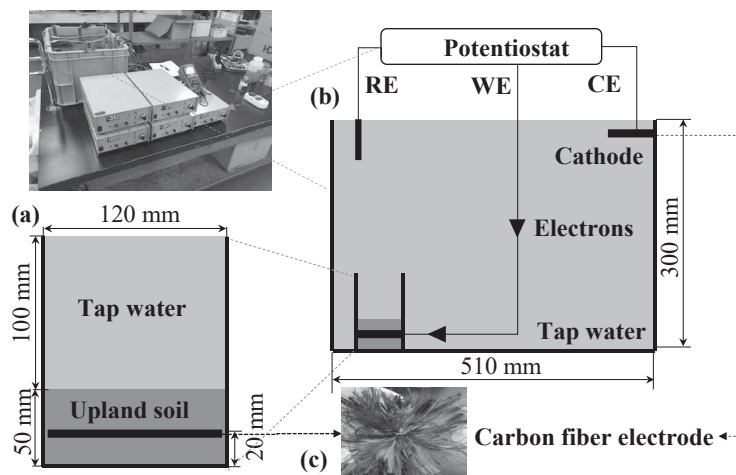


図-4 土壌の物理的特性の変化を検討するための実験装置

## 7. 研究成果

### (1) リン化合物を解離するための太陽電池の最適な電圧(実験①)

太陽電池の電圧を増大させることで負電極の電位が低下し (**図-5**)、負電極周辺で還元反応が活発に生じたことがわかる。すなわち、太陽電池の電圧を変えることで電極電位を制御できる。

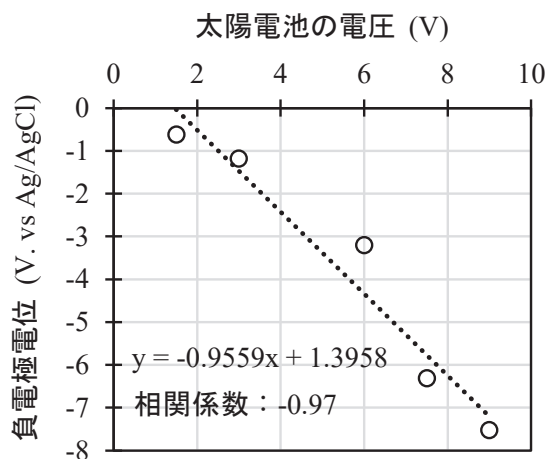


図-5 太陽電位電圧と電極電位との関係

土壌間隙水中のリン酸濃度の変化 (**図-6**) をみると、太陽電池の電圧が 3 V 以上ではリン酸濃度の増加を確認した。以上の結果から、土壌内のリン化合物を解離するためには、太陽電池の下限電圧は 3 V (**図-5** により、電極電位が -1 V) であった。電圧の増大に伴って、リン酸濃度が上昇するが、6 V を超えると、リン酸濃度が低下したことを確認した。以上のことから、6 V の電圧 (電極電位が -3 V) が最適 (リン酸濃度が最大となる、**図-6**) だと考えられる。

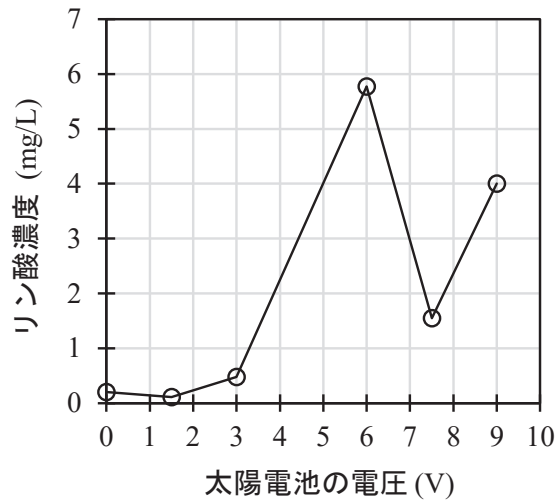
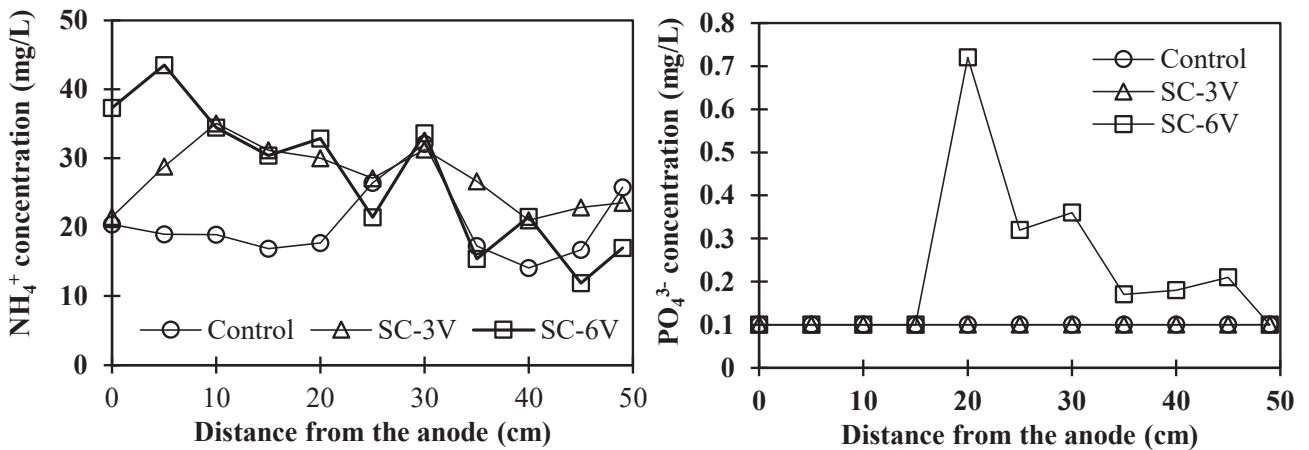


図-6 土壌間隙水中のリン酸濃度の変化

(2) 土壌内の栄養素の生成分布(実験②)

図-3 に示した実験②では、2021 年度の実験結果と同様に土壌間隙水にアンモニウムの濃度増加が確認された (図-7a)。3 V の太陽電池を用いた条件ではリン酸の濃度増加は確認できなかった (図-7b)。太陽電池の電圧を 6 V にすると、リン酸濃度が増加した。アノード (酸化反応が生じる電極) から 20 ~30 cm 離れた位置にリン酸が多く生成された。しかし、アノード周辺ではリン酸濃度が低かった。これは、生成されたリン酸が溶出したカルシウム (図-8a) と結合したためである。アンモニウムとリン酸の他に、カリウムの溶出 (図-8b) も確認しており、本技術は土壌内における三大栄養素 (N、P、K) の生成に利用できることが明らかになった。



(a) アンモニウム濃度

(b) リン酸濃度

図-7 土壌間隙水中のアンモニウムとリン酸の生成分布



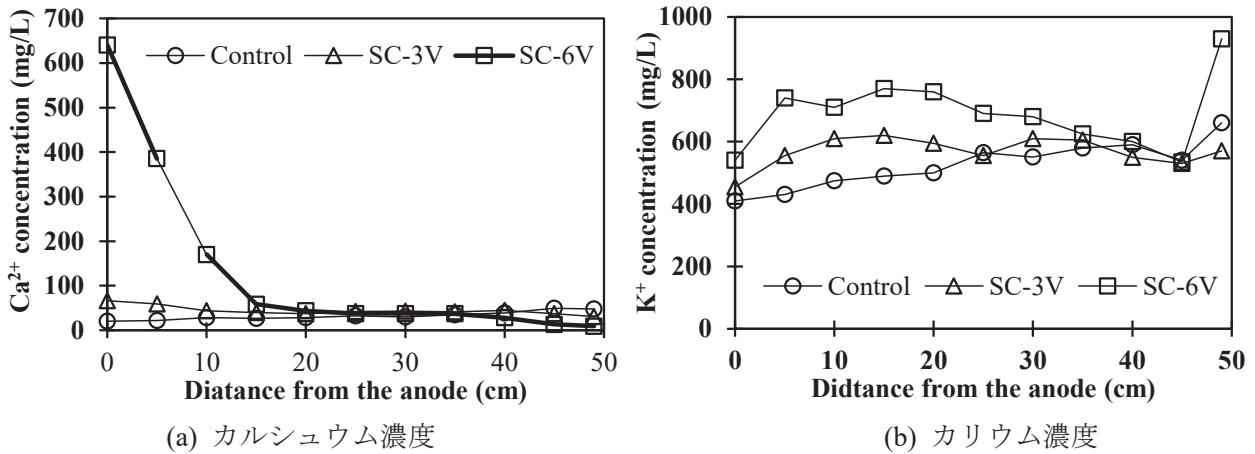
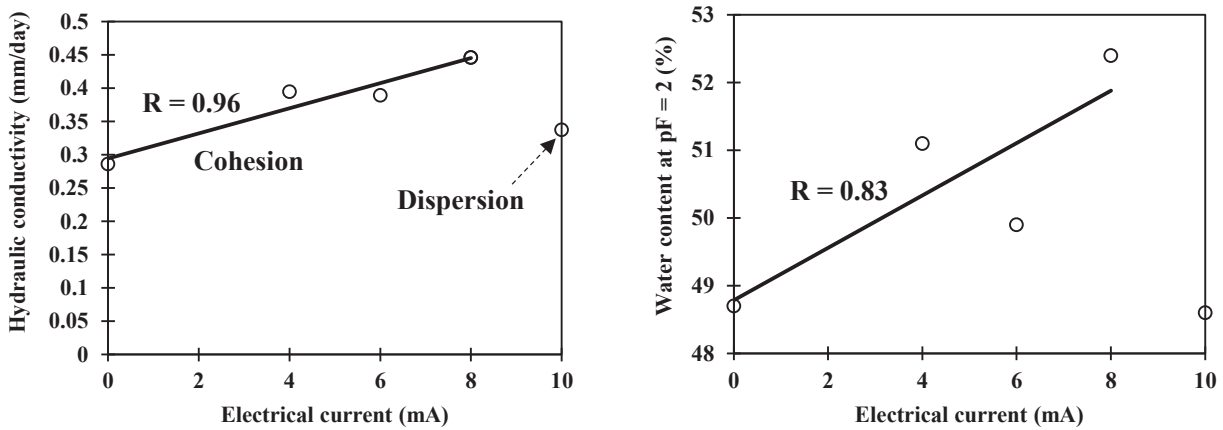


図-8 土壌間隙水中のカルシウムとカリウムの溶出分布

### (3) 還元反応による土壌の物理的特性の変化(実験③)

図-9には通電電流（ポテンショスタットで固定した電流）と土壌の飽和透水係数および含水比（ $pF = 2$ ）との関係が示されている。実験結果から、電流を増大させる、すなわち、土壌の還元性を発達させると、透水係数の増加（図-9a）および含水比の増加（図-9b）を確認した。なお、強い電流（10 mA）は透水係数および保水性を低下させた。

既往研究では動電学的処理法を粘土性土壌に適用することで、土壌間隙水中にイオン濃度や粘土粒子のゼータ電位を変化させることが報告されている。このことから、土壌内に還元反応を起こすことで土壌の団粒が発達することを示しており、言い換えれば電極反応は土壌の団粒化を制御できることが明らかになった。しかし、高い電流領域では効果がなく、限界電流が存在しており、制御に注意を要すると考えられる。



(a) 電流と透水係数との関係

(b) 電流と  $pF$  が 2 ときの含水比との関係

図-9 土壌の透水性と保水性の変化

2022年度では有機性土壌に本技術を適用することで、三大栄養素の生成のみならず土壌の団粒を発達させることができ、生産性の向上に寄与できる可能性が高いことが明らかになった。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現時点で、本成果が実用ならびに他の研究に活用されていない。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年度では6Vの太陽電池を利用することで、土壌内の三大栄養素(N、P、K)の生成が確認された。しかし、通電に伴って電極周辺ではpHが大きくなり変化、および強い還元・酸化状態に置かれた。これらは植物の生育に影響を及ぼす可能性があると考えられる。したがって、2023年度では小松菜栽培試験により、本技術の適用に伴う植物成長への影響を明らかにする。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Touch N. and Nakamura T.: Reuse of Unavailable Phosphate in Soils Using Solar Cell-Powered Electrokinetic Treatment, International Journal of Environmental and Rural Development, Vol. 14, 2023。(投稿中)
- 2) Nakamura T. and Touch N.: Changes in Soil Physical Properties Owing to Soil Reduction Treated with Electrokinetic Treatment, International Journal of Environmental and Rural Development, Vol. 14, 2023。(投稿中)
- 3) TOUCH NARONG, 重富 宏太, 中村 貴彦: 太陽電池を用いた土壌内のリン酸生成システムの提案、廃棄物資源循環学会研究発表会講演集、第33回、pp. 241-242, 2022。

### 学会発表

- 1) Touch N. : Reuse of Unavailable Phosphate in Soils Using Solar Cell-Powered Electrokinetic Treatment, **Oral Presentation**, 14<sup>th</sup> International Conference on Environmental and Rural Development, 2023/3/4.
- 2) Touch N. : Changes in Soil Physical Properties Owing to Soil Reduction Treated with Electrokinetic Treatment, **Poster Presentation**, 14<sup>th</sup> International Conference on Environmental and Rural Development, 2023/3/4.
- 3) Touch N. : 太陽電池を用いた土壌内のリン酸生成システムの提案、**口頭発表**、第33回廃棄物資源循環学会研究発表会、宮崎大学、2022/09/20 - 2022/09/22.

# 2022年度 東京農業大学 持続可能な農業研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 武田 晃治

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
機能性付与アメリカザリガニの代替タンパク質創出	2,380,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	武田 晃治	教職課程・教授	研究統括・餌作成・給餌試験・タンパク解析・教育実践
研究分担者	高橋 信之	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	栄養成分分析
	美谷島克宏	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	安全性試験
	加藤 拓	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	肥料成分分析
	浅井 俊光	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	水質分析
	黒澤 亮	農学部 動物科学科・助教	餌の開発・栄養成分分析
	鈴木 敏弘	応用生物科学部 醸造科学科・准教授	栄養成分の網羅的解析
	小松 憲治	農学部 生物資源開発学科・准教授	遺伝的解析

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023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、東京農業大学戦略プロジェクトや科研費研究を通じて、アメリカザリガニの体色変化を観察する実験教材の開発に取り組み、その知見を活用した科学教育実践を行ってきた。

アメリカザリガニ（以降、ザリガニ）は子どもから大人までがよく知る馴染み深い生き物である一方で、在来の水生昆虫や水草群落など生態系への影響や稲苗の食害、水田の畔の崩壊など農業被害の要因でもあることから、環境省・農林水産省により、生態系被害防止外来種リストの緊急対策外来種に

指定されている。よってザリガニは、対策の緊急性が高く、積極的に防除を行う必要のある生物である。さらに 2023 年 6 月からは、条件付き特定外来生物として規制対象生物となる。そのため、ザリガニは有志団体により駆除されているが、その後の資源としての積極的な活用はほとんどされていないのが現状である。

上述したように日本ではザリガニを資源とした積極的な活用事例はほとんどないが、欧米や中国ではザリガニは食用（タンパク源）として利用されている。すなわち、ザリガニ駆除とその後の活用は、その地域環境や他の地域資源を守るだけでなく、持続可能な農業資源としての新たな資源開発にもつながると考えられる。

## 5. 研究目的

本研究では、「環境、外来種、生命、資源、食料」について学ぶ環境&科学教育から、本学の主軸となる環境や食料に対する専門性を活かし、将来の食料問題に向けた環境負荷低減の有用資源として、機能性付与ザリガニの食用・農業用資材への利活用を考えた。

具体的には、地域の社会教育として、ザリガニをきっかけとした生態調査により、身近な生物への関心を高める環境教育を実施し、駆除活動による環境保全を行う。環境教育を通じて駆除したザリガニの観察や体色を変える実験を組み入れた科学教育に活用し、環境&科学教育を実践する。次に、水の循環を通じてザリガニと葉物野菜の水耕栽培とを組み合わせたアクアポニックスにおいて、両者を同時に育成することのできる餌を開発し、栽培・養殖する。そして栄養価を高め、機能性を付与したザリガニを栄養学的な視点から研究し、その安全性を評価することで、未来の代替タンパク質として人や動物の食用として活用する。また、殻は食品添加物、非食部は肥料に用いてザリガニを循環型農業資源に活かす。本研究で行う地域の社会教育から始まるザリガニを活用した機能性付与代替タンパク質創出は、SDGsにつながる新たな農大ブランドとして意義のある研究として発信し、持続可能な農業資源開発を行う。

## 6. 研究（実験）方法

本研究は、教育活動を通じ、本学の専門性を活かして開発するアメリカザリガニの資源化に向けた研究として、大きく4つのテーマで行う。1) 環境科学教育の実践、2) ザリガニ飼養餌の開発と給餌試験、3) アクアポニックスにおける飼育装置の改良、4) ザリガニの栄養価分析に取り組む。

### 1) 環境科学教育の実践

本年度も一般の方を対象とした社会科学教育、小中高の児童生徒、大学生を対象とした科学教育を行い、科学的な視点から捉えたアメリカザリガニの資源活用に関する啓蒙活動を行う。

本年度も4月に経堂図書館と教職・学術情報課程とのコラボイベントとして、一般の方を対象としたザリガニを用いた実験・講義、6月に東京農大稲花小学校の3年生に対してザリガニの授業実践、7月と8月につくば市荃崎地区のくきさき地域創生会との連携事業として、ザリガニを題材とした町おこしにつながる体験プログラムを実施する。

### 2) 脱色餌と色素含有餌の作成と給餌試験

脱色餌の原料は、カロテノイド色素を含まないものを使用した。炭水化物として米粉、タンパク質として大豆粉と豚骨粉、脂質としてイワシ油を用い、米粉、大豆粉、豚骨粉、魚粉、いわし油を2:3:2:2.8:0.2で混合し、水を適量入れ、団子状にした。形成して20分間蒸した後、固形化して飼料として用

いた。脱色餌によるアメリカザリガニの体色変化を観察する給餌試験は、生後8週ほどの個体4匹を選び、1匹当たり脱色餌0.05gを1日1回午前に給餌した。また、前日に与えた餌の食べ残しがないことを確認し、給餌前に毎日水替えを行い、給餌期間は8週間とした。なお、対照実験として、同条件で市販のザリガニ餌（Kyorin）を用いた。

機能性を有する色素含有餌は、蒸す前の脱色餌をベースとして、アナトー色素の原料であるノルビキシン（富士フィルム和光）もしくはビキシン（富士フィルム和光）それぞれをベース飼料と色素を9:1で混合し、水を適量入れ、団子状にした。形成して20分間蒸した後、固形化して色素含有餌として用いた。色素含有餌によるアメリカザリガニの脱色を観察する給餌試験は、8週間の脱色餌の給餌により体色が白色化した個体を使用し、ビキシンもしくはノルビキシン含有餌をそれぞれ4個体ずつに給餌した。各個体の体重0.1gに対してそれぞれの色素含有餌0.03gを1日1回午前に給餌した。また、前日に与えた餌の食べ残しがないことを確認し、給餌前に毎日水替えを行い、給餌期間は9日間とし、同条件で毎日写真撮影を行った。その写真を用いて、飼育したザリガニ写真の第6腹節部分のR値・G値・B値をカラーピッカーソフト *spoitkun* により計測し、経時的な変化をグラフ化した。データは4匹のそれぞれの値を平均値±SDで表記した。

植物性、動物性脂肪酸を含む飼料を以下の通り作成した。脱色餌の原料は、カロテノイド色素を含まないものを使用した。炭水化物として米粉、タンパク質として大豆粉と豚骨粉、魚粉を混合したベース飼料を作成した。脂質はコントロールとしてグリセリン、動物由来のいわし油、植物由来のえごま油をそれぞれ用いた。米粉：大豆粉：豚骨粉：魚粉：脂質（グリセリン or いわし油 or えごま油）を2:3:2:2.8:0.2で混合した。混合飼料1gに対して水を0.5ml加え、団子状にした。形成して20分間蒸した後、固形化して飼料として用いた。給餌試験は、生後8週ほどの個体4匹を選び、1匹当たり脱色餌0.05gを1日1回午前に給餌した。また、前日に与えた餌の食べ残しがないことを確認し、給餌前に毎日水替えを行い、給餌期間は8週間とした。なお、脱皮をした際は、脱皮殻が摂食される前に回収した。8週間後にそれぞれの個体を凍結保存し、GC/MSによる栄養成分の網羅的解析による比較を行う。

### 3) アクアポニックスにおける飼育装置の改良

通常のアquaポニックスの水槽を用いる場合、上部で植物を育成し、下部の水槽でザリガニを飼養することになる。しかしながら、個別飼育のしにくさ、脱走などの問題点から昨年度は植物とザリガニの飼育部位を逆転し、ザリガニを個別飼育できる小型装置を開発した。ところが、ザリガニ飼育槽の水量調節に課題があったため、本年度から本学生産環境工学科の岡澤宏教授との共同研究により、スケールを大きくした装置の開発を行い、水量調整を可能にしたアクアポニックス装置の改良に取り組む。

装置の作成には、塩ビ管（内径13、16、20、25、30mm）、プラスチック水槽（29.9cm x 19.2cm x 20.1cm）、5段ラック、水中ポンプ（Karinear:1500l/h）、ビニールチューブ（内径19mm）、植物育成用大型バット、植物用土壌（メトロミックス360）、植物用育成用不織布ポット（フェルト製）を用いた。20cmの各塩ビ管を上から5cmほどプラスチック水槽内部に刺しこみ、その付け根に排せつ物や食べ残しの餌が流れるような小さな穴を2つ空けた。塩ビ管を刺した5つの水槽を上から下に水が流れるよう上下に配置にした。水は、最下部の植物育成用大型バットからポンプで一番上のザリガニ飼育用プラスチック水槽に汲み上げて循環させる。その際、水の流入量が排出量を上回ることはないように内径の大きい塩ビ管を刺した水槽を上から順に配置した。

#### 4) ザリガニの栄養成分分析

色素含有餌による給餌試験により、薄層クロマトグラフィーによる体色要因物質の検出を行う。試料は、コントロールとしてアセトンに溶解した 0.01%ノルビキシン（富士フィルム和光）および 0.01%ピキシン（富士フィルム和光）、ザリガニの生体の外骨格尾扇部を用いる。尾扇は 1-2 枚、臓器（消化管）を傷つけないように切断し、質量 0.01g に対して 50 $\mu$ l のアセトンを加え、軽く混ぜた後、20 秒間の遠心分離を行い、色素抽出をする。色素抽出後、すばやくそれぞれのサンプルを TLC プレート（TLC Silica gel 60 RP-18 F<sub>254</sub>S [5×7.5cm] , Sigma-Aldrich）にスポットし、展開槽中の溶媒（水：アセトンを 1：9）に浸し、展開させる。

ザリガニの栄養成分の分析では、凍結検体のザリガニをまず 100℃に設定した恒温器で 1 時間乾燥、放冷、重量測定を繰り返し、重量が軽くなるまで繰り返す。乾燥した検体は粉碎処理を施し、分析に用いる。なお、分析検体は 6 匹をプールして処理したものをを用いる。また、水分は常圧加熱乾燥法の 135±2℃2 時間乾燥法で測定する。タンパク質はケルダール法で全窒素含量を定量し、分析値に窒素係数 6.25 倍して算出する。脂質は迅速脂肪抽出法でエーテル抽出したものを脂質とする。無機質は 550℃の電気炉による燃焼法で得られた残渣を無機質とする。炭水化物は、水分、タンパク質、脂質、無機質の合計値を 100 から差し引いた値とする。

ザリガニ栄養成分の網羅的解析では、凍結乾燥させたサンプル 10 mg（尾の可食部を少量採取）から親水性化合物を溶媒抽出し、揮発性化合物に誘導体化（オキシム化、TMS 化）した後、島津製作所トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）にて網羅的データ解析を行い、異なる脂肪酸を含む飼料で 8 週間飼育したザリガニに対する比較解析を行う（n=4）。

## 7. 研究成果

### 1) 環境科学教育の実践

小学生、中学生、高校生の児童・生徒から大人を対象に授業実践を行った。実施時期と対象者は以下に記載した。

令和 4 年 4 月 16 日 経堂図書館・教職・学術情報課程合同イベント

令和 4 年 6 月 10、17 日 東京農業大学稲花小学校 3 年生 2 クラス

令和 4 年 7 月 24 日 つくば市荃崎地区 講座 茨城県つくば市荃崎地区小中高校生・地域住民対象

令和 4 年 8 月 4 日 新・才能の芽を育てる体験学習 自然体験教室

令和 4 年 8 月 17 日 世田谷区教育総合センター主催 STEAM 教育 講義

令和 5 年 1 月 21 日 世田谷区教育委員会主催ガリレオコンテスト講演（ザリガニ研究の今とこれから）  
授業実践を通じて、ザリガニをきっかけとして環境保全や生き物の命に対して改めて考える機会になっていること、資源としての捉え方のきっかけになることが、受講者の感想からも明らかとなった。また、本授業で扱っている 7 つのポイント（ザリガニの生息環境、特徴、導入の歴史、生息分布、外来種問題、カラフルザリガニ、資源活用）について昨年度作製した絵本の英語版も、児童生徒、大人を対象に冊子を作成し、配布した。

### 2) ザリガニ飼養餌の開発と給餌試験

TL2-3 cm のザリガニに 8 週間給餌した結果、市販のザリガニ餌では、体色が茶色くなるのに対し、脱色餌は体色が白色化した（図 1A）。ザリガニの体色は赤黒い色が一般的であるが、カロテノイド色素量の少ないアジやサバを与えることで脱皮ごとに体色が青、白色へと変化することが知られて

いる。また、アジやサバなどは、飼育水の汚染や臭いの原因となりやすく、本実験で作成した脱色餌は代替餌にもなり、飼育のしやすさでの利点が考えられる。

脱色餌により白色化したザリガニに対して色素含有餌を給餌した結果、ノルビキシン含有餌では給餌1日から4匹全ての個体の体色がオレンジ色に変化したのに対し、ビキシン含有餌では個体差はあるが緩やかに黄色に変化した(図1B)。我々の先行研究により、遺伝的に固定された白色ザリガニにアナト一色素(TCI, Japan)含有餌を給餌することで、体色がオレンジ色に変化することを特許として見出していたが、食品用アナト一色素に含まれるノルビキシンとビキシンのどちらがオレンジ色の体色要因に関わるかは不明であった。本研究から、脱色させた野生ザリガニに対して、ノルビキシンは濃いオレンジ色に、ビキシンは黄色の体色に寄与することを明らかにした。このノルビキシンとビキシンの体色における違いが何に起因するかは今後の検討課題である。

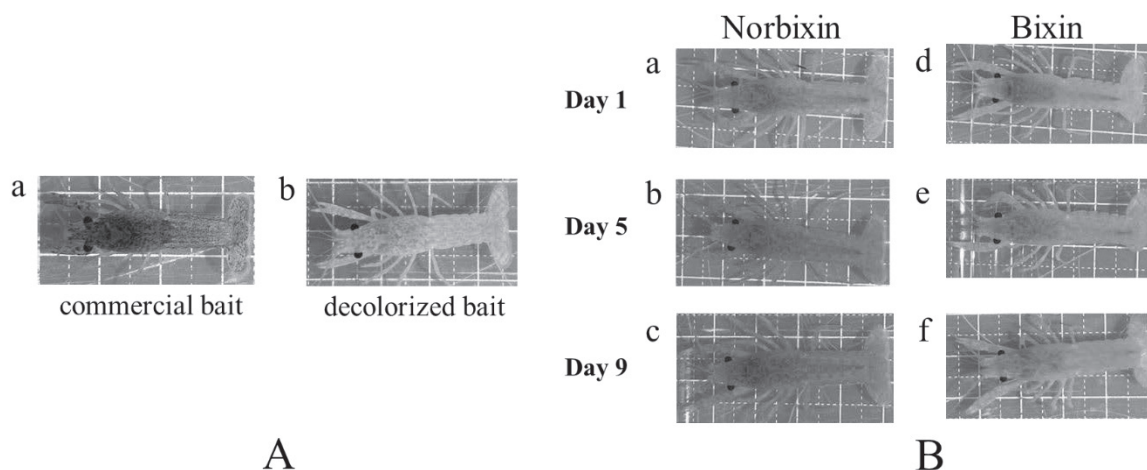


図1 野生ザリガニの体色変化

255段階のRGB値による色味抽出の結果(図2)から、G値においてコントロール、ビキシンは給餌期間ほぼ一定であったのに対し、ノルビキシンは緩やかに下降しているのが確認できた。また、B値はノルビキシンでは短期間で減少しているのに対し、ビキシンは緩やかに下降していた。R値はコントロール、ビキシン、ノルビキシンともに変化は見られなかった。一般的に、黄色は $R \approx G > B$ 、オレンジ色は $R > G > B$ となる傾向がある。また、オレンジ色、黄色はどちらもB値が0に減少していくことでより濃いオレンジ色、黄色になる。本結果は、給餌試験で観察されたように見た目の色味を支持する結果となった。見た目の色の変化を色味抽出ソフトにより数値化する取り組みは、観察事象をより科学的に捉える活動にもつながり、科学教育のみならずSTEAM教育への活用も考えられる。

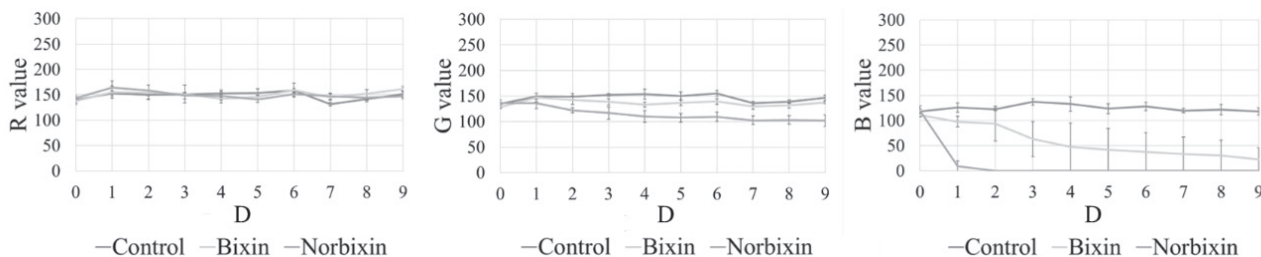


図2 RGB値による色味抽出

多くの甲殻類は茹でると赤くなるように、野生ザリガニも茹でる前は赤黒い（図 3A）が、茹でると赤くなる（図 3B）。面白いことに、ノルビキシンによりオレンジ色に変色したザリガニの第一歩脚（図 3C）を同条件で茹でた結果、オレンジ色のまま（図 3D）であった。オレンジ色は赤色同様に食品の嗜好性を高める効果があると報告されていることやノルビキシンには抗酸化活性を有することから、本知見はオレンジ色のザリガニを食材とした機能性のある食品開発にもつながると考えられる。

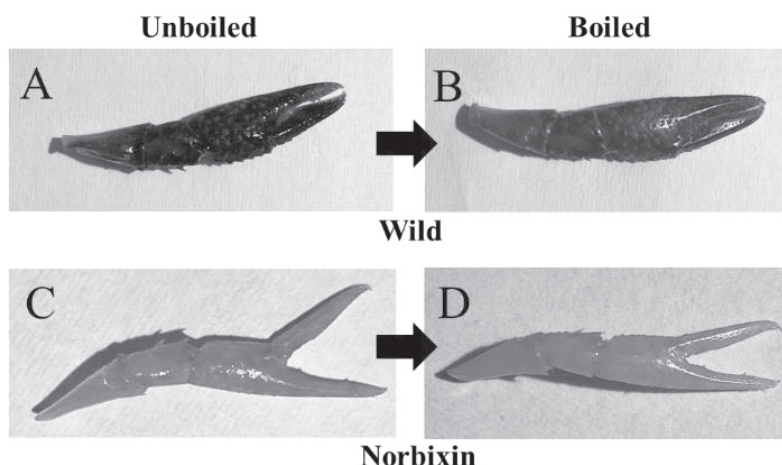


図 3 湯煎前後の色味変化

### 3) アクアポニックスにおける飼育装置の改良

アクアポニックス装置では、異なる径の塩ビ管を大きい順に上から配置することで、流入量に対し、排出量が上回ることがないため、安定的に水を循環できた。また、水槽内部に 5 cm ほど塩ビ管が刺さった状態であることから、ポンプが止まらない限り、水量を保つことのできる飼育装置が完成した。さらに、水槽には仕切りを入れることが可能なため、1 つの水槽で複数匹飼育することや水槽の数やポンプを増やすことでさらに飼育数を増やすことが可能となる。

アクアポニックスでは、一般的に植物は水耕栽培であるが、土で飼育することで、ザリガニの排せつ物や餌の食べ残しの栄養に依存した生育問題を解消することが可能となる。そこで、水の吸収と排出が可能で、土が漏出しない不織布ポットでの栽培を本飼育装置に取り入れた。しかしながら、現在の飼育装置では、植物の根腐れを防ぐためにも手動でポットを移動させなくてはならない手間の問題があるため、今後も最適な飼育装置の開発を検討していく。



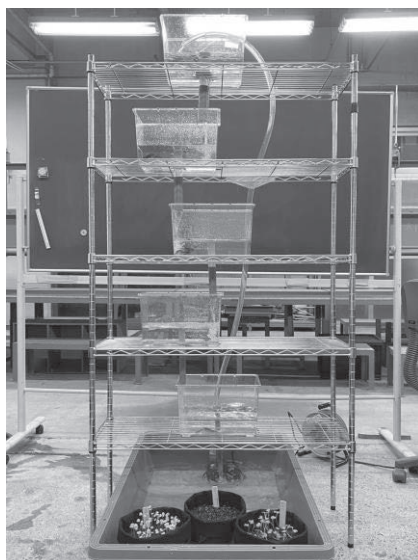


図4 アクアポニックス装置

#### 4) ザリガニの栄養成分分析

薄層クロマトグラフィーの結果から、ノルビキシン（レーン①）もしくはビキシン（レーン③）のコントロール試薬同様に、それらを給餌したザリガニの尾扇（レーン②、レーン④）からも、同じ位置にバンドが確認された。このことから、餌に含まれている色素が体内に蓄積されていることが観察できた。なお、本実験では生体由来の尾扇を用いたが、脱皮殻においても同様の結果が得られた（未公開データ）。本実験は給餌試験と並行して行うことで、見た目の体色変化とその体色要因物質の検出というマルチスケールの実験教材としての活用が考えられ、教育現場での活用が望まれる。

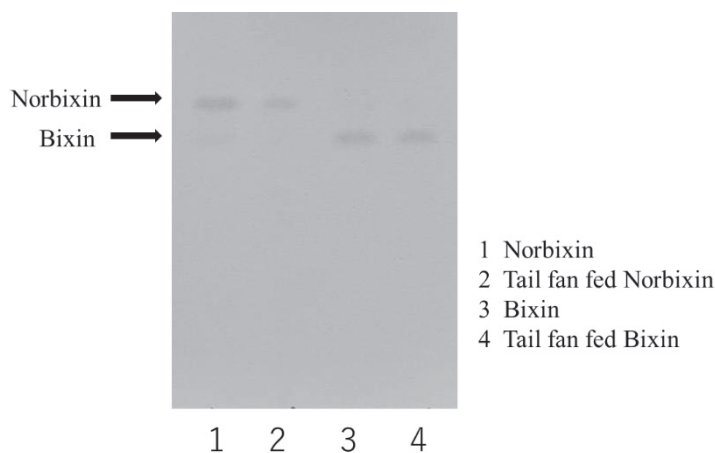


図5 薄層クロマトグラフィーによるノルビキシン、ビキシンの分離

アメリカザリガニに含まれる栄養成分の分析では、以下の表に示した。風乾率は32.8%であった。水分含量は7.20%（69.6%原物）、タンパク質含量は39.2%（12.9%原物）、脂質含量は7.95%（2.6%原物）、炭水化物含量は3.7%（12.2%原物）、無機質含量は34.3%（11.2%原物）であった（表1）。

表1 ザリガニの栄養成分

	%	
	原物%	乾物%
水分	69.6	
タンパク質	12.9	42.3
脂質	2.6	8.6
炭水化物	3.7	12.2
無機質	11.2	37.0

ザリガニに含まれる栄養成分は、タンパク質：脂質：炭水化物＝5：1：1であった。甲殻の主成分は、キチンで含窒素化合物なので粗タン白質として定量される。よって、タンパク質は、臓器、筋肉、甲殻に由来に成分含量として高い値を示した。また、甲殻には、Caが多く含まれるので、無機質がタンパク質と同等に高い値を示す。一方、脂質と炭水化物は、同等の値であったが、比較すると炭水化物が多く含まれる。今後、可食部となる尾部における栄養価の分析を行い、全体の栄養価との比較を行う予定である。また今後、脂肪酸を変えた餌で飼育したザリガニサンプルを用いて、GC/MSによる栄養成分の網羅的解析を行う。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

アメリカザリガニの食用化については、本年度のザリガニ体験プログラムの一環として、茨城県つくば市くさき地域創生会を中心に、地元のハンバーガー屋さんによるザリガニバーガーやレストランでスープ、グラタンして創作料理が提供された（読売、朝日、茨城新聞に掲載）。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年度は、学内および学外の方（食品会社や料理人など）を対象に、「アメリカザリガニの資源としての活用」をテーマとしたミニシンポジウム（講演・試食会）を農大サポート等と連携して企画していたが、コロナ渦の影響で実施できていない。来年度は、研究成果の発表のみならず、実際にザリガニ料理（市販ザリガニを使用）を実食する機会を設け、今後の食品としての活用を体験する。

アクアポニックス装置の継続的な試験を行い、植物の生育試験や水質検査など、ザリガニ飼育に対しても最適な飼育条件を検討する。

また、機能性を持たせたザリガニとして、アナトー色素などの含有餌により着色したザリガニの安全性を評価する実験を来年度行う予定である。また、飼育条件を変化させることで、機能性をもつ栄養成分変化の分析を行う予定である。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) 赤石裕美恵、武田晃治、惟村直公、村上篤太郎 ザリガニからはじめる環境科学教育 農学図書館協議会（2023）, No.209, pp.1-7.

### 学会発表

- 1) Higuchi, S., Ono, H., Honda, H., Maskey, S., Kurosawa, A., Suzuki, T., Takahashi, N., Okazawa, H. and

Takeda, T. Educational Material Research on the Color of Crayfish for Conversion to Edible Resources.  
*International Journal of Environmental and Rural Development* (2023) 2023 年 3 月 発表

その他

- 1) Takeda, K., Higuchi S., Ono H., Asai T., Kato, T., Suzuki, T., Takahashi, N., Miyajima, K., Kurosawa, A., Komatsu, K. and Okazawa, H. July 2022. Environmental science education on the subject of crayfish (*Procambarus clarkii*), Open Access Government, 332, 240-241.
- 2) Takeda, K. et al. The True Tale of the Crayfish. Environmental Science Education: The Case of the Crayfish. 英語絵本 pp.1-10. 2022年7月
- 3) 読売新聞 令和 4 年 8 月 24 日
- 4) 茨城新聞 令和 4 年 9 月 13 日
- 5) 朝日新聞 令和 4 年 10 月 16 日
- 6) 渋谷クロス FM (令和 4 年 7 月 21 日)
- 7) エフエム世田谷 (令和 4 年 8 月 19 日)

# 2022年度 東京農業大学と東京情報大学との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 町田 怜子

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
Society5.0 社会におけるレジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮するロボティック・プロセス・オートメーション (RPA) 実装の加速化	1,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	町田 怜子	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	統括・農福連携における援用システム構築
研究代表者 (東京情報大学)	朴 鍾杰	総合情報学部 総合情報学科・情報システム学系・教授	UAV による農作物認識と多様な人々の補助 AI 作成
研究分担者	大見 嘉弘	東京情報大学 総合情報学部 総合情報学科 情報システム学系・准教授	UGV 製作と IoT との遠距離無線通信確立
	内田 治	東京情報大学 総合情報学部 総合情報学科 数理情報学系・准教授	収穫作物の官能評価
	池田 幸代	東京情報大学 総合情報学部 総合情報学科 社会情報学系・准教授	収穫作物の官能評価
	高畑 健	農学部 農学科・教授	特定農作物の適栽探索と栽培技術評価
	鈴木 伸治	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	農地土壌環境の評価
	関山 絢子	地域環境科学部 生産環境工学科・准教授	ハイパースペクトル画像を用いた収穫最適期の推定
	藤川 智紀	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	有機物の利用による環境負荷低減と地域活性化
	下嶋 聖	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	MMS/3D レーザ測量を用いた超高精細農地基盤の解析
大久保研治	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	スマート農業及び農福連携による農作業の経済性評価	

	谷岡 由梨	国際食料情報学部 国際食農科学 科・准教授	収穫物の機能性と成分特性に 関する研究
--	-------	--------------------------	------------------------

### 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日

### 4. 研究の背景（当初）

Society 5.0 で実現する社会は、IoT を用いた知識・情報の共有・連携強化、イノベーションによる地域の課題や高齢社会のニーズへの対応、AI による情報の探索・分析及びその提供、ロボットや MR (Mixed Reality : 複合現実) を援用した多様な人々の就労支援や負担軽減の具現化である。スマート農業元年である 2018 年より内閣府は「戦略的イノベーション創造プログラム (SIP)」を掲げ「世界トップレベルのスマート農業の実現」を目指している。スマート農業の各種実証実験や社会実装の検証が始まったが、一方で新技術の持続性を担保するための経済性評価や現場の農業従事者の立場に立った技術のアクセシビリティ検証は不十分なままである。そこで、本研究では、農業革新や障害者の農業参画を促す農福連携の機会拡大のツールとして注目を浴びているスマート農業（精密農業）の技術導入において、栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーション (RPA : 事業プロセス自動化技術) 実装化とその経済性の確立し、多様な人々の農作業支援を目指した援用システムの実証評価手法の構築を目的とする

### 5. 研究目的

本プロジェクトは 2021 年度度東京農業大学と東京情報大学との共同研究に採択され、実例が少なかった農地を走行でき対象物の観測に適した UGV 車体開発や、機械画像を用いた生育ステージの農業カレンダーを自動的作成可能とするアルゴリズム開発に成功した。さらに、リモートセンシング技術を用いた農大ペピーノ糖度および収量予測の可能性など、研究者間の緊密な連携と研究体制により実証実験に基づく研究成果をあげることができた。

しかし、東京農業大学と東京情報大学が持つ研究ブランド力と技術力を活かした本プロジェクトの社会実装を加速化するためには、UAV による機械学習や DL (深層学習) に農作物の判別精度向上、行動認識による多様な人々の農作業支援 AI 開発、農福連携に適した特定農作物の付加価値や市場性を高めるため機能性と官能評価、さらに、本プロジェクトにより開発されたスマート農業技術や市場価値の経済性評価の実証試験を検証し、現場の農家が求める援用システム構築のため、研究継続が必要不可欠である。そこで、栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーション (RPA : 事業プロセス自動化技術) 実装化とその経済性の確立し、多様な人々の農作業支援を目指した援用システムの実証評価手法の構築を目的とする。

### 6. 研究（実験）方法

本研究は、主要な研究の柱として、「1. IoT センサーと無人機 (UAV と UGV) との情報交換技術確立」、「2. 多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索とその官能・機能性評価」、「3. 可視画像及びハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発」、「4. レジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮する栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーションの実装化とその統合評価」、を掲げ以下の通

り実施する（図一1）。

### 研究課題 1. IoT センサーと無人機（UAV と UGV）との情報交換技術確立

（情報大：朴・大見、東京農大：鈴木・関山・下嶋）

#### (1) UGV 製作と IoT との遠距離無線通信確立

機械学習のための農作物データベース構築のため物体認識の精度を向上するために DSM 情報による物体形状を把握し分類の精度を向上に関して研究を行う。また UGV の開発に向けての課題はカメラ機能や傾斜等にも対応できるロボティック・プロセス・オートメーションの研究開発を行う。

### 研究課題 2. 多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索とその機能性・官能評価

（東京農大：高畑・藤川・谷岡・町田、東京情報大：内田・池田）

#### (1) トウガラシの収穫適期や収穫後の品質選別に関する自動システムに関する研究

特定農作物の適栽探索として、色や形で収穫適期を判断するトウガラシを対象に、トウガラシの AI による選別作業支援システムを構築する。

#### (2) 特定農作物の機能性と成分特性の把握

さらに、農福連携にした特定農作物の付加価値や市場性を高めるため、機能性と成分特性に関する解析も進め、官能評価の実験も実施する。特定農作物の一つとして、東京農業大学が特許を所得した根量減少植物栽培方法（特願 特願 2016-176107 特許 特許第 6197257）によるワッシャーを用いた簡易なペピーノ栽培した官能・機能性評価を行う。

### 研究課題 3. 可視画像及びハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発

（東京農大：鈴木・関山・情報大：朴）

#### (1) 機械画像を用いた農業カレンダーの自動作成

機械学習アルゴリズムの開発ではマルチスペクトルデータの正確な反射率変換のデータを取得し、作物の株ごとの解析の場合空間解像度（2mm）の精密幾何補正と大気補正を行う。さらにドローン観測と同時にデータ補正のための地上照度観測を行う必要がある機会学習のための基本的データの収集を継続し、作物の種数を増やし研究データを蓄積する。

#### (2) 高糖度ペピーノ栽培における水分管理の定量化及びスペクトルデータを用いた育成モニタリング

ハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発を推進するために、収量と糖度予測のためのパラメータ解析を進め、機械学習や DL（深層学習）による収量、水分管理の定量化予測モデルを作成する。さらに、予測モデルは、新たにデータが蓄積されると機会学習のデータとなり、UGV への展開に向けた研究を推進する。

### 研究課題 4. レジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮する栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーションの実装化とその統合評価

（東京農大：大久保ら全員）

農福連携や官能性・機能性評価からみた市場価値からみた経済評価を、市場調査を行い実施する。そして、現場の農家従事者が真に求める援用システムについて明らかにする。

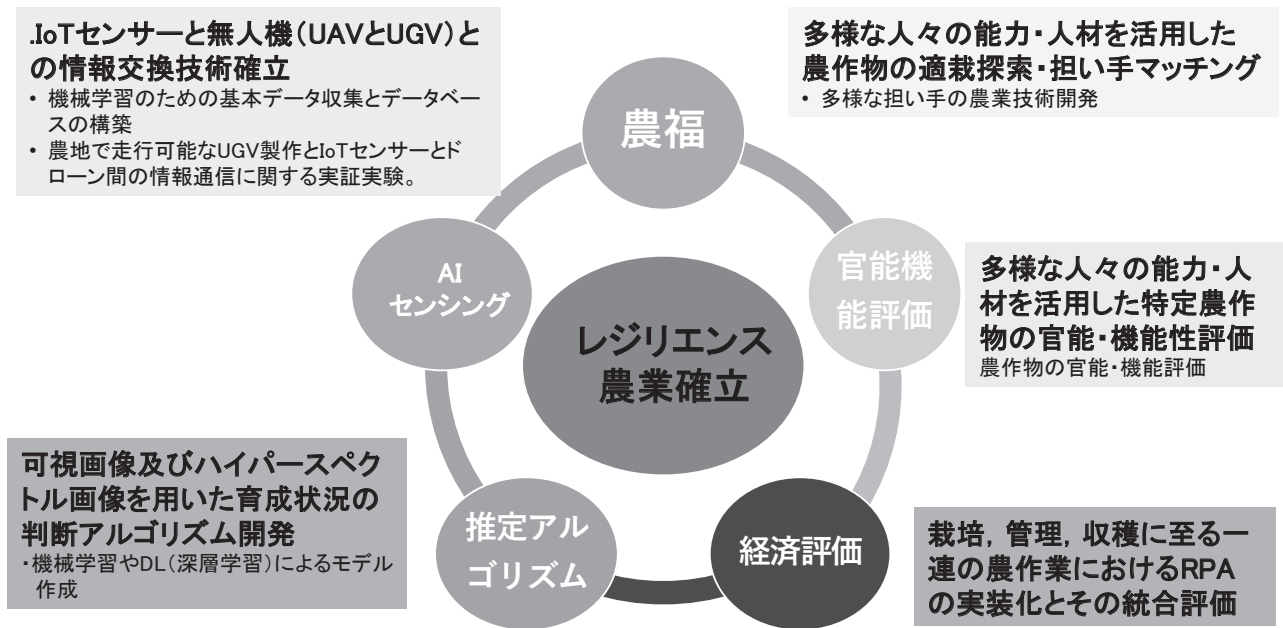


図1 本プロジェクトの研究体制

## 7. 研究成果

研究課題 1. IoTセンサーと無人機(UAVとUGV)との情報交換技術確立 (情報大: 朴・大見、東京農大: 鈴木・関山・下嶋) (1) UGV製作とIoTとの遠距離無線通信確立 (情報大・大見)

農地向け UGV は開発があまり進んでおらず、あっても高価なものが多く、研究で利用するには障壁が高い。このため、本プロジェクトでは安価に開発し手軽に利用できる UGV の開発を行う。

2021 年度は、農地の通路を走行できる性能の車体を製作し、手動で操縦する UGV を製作した。安価に開発するために、主にラジコン車の技術を用いた。また、自律走行車の研究で広く用いられている ROS(Robot Operation System)を採用した。そこで、無線ゲームコントローラを用いて人が操縦できる機能を実装した(図一2)。

また、今後の自律走行を見据えて GPS による位置情報取得機能を設けた。さらに、モバイルルータを搭載し、携帯電話網によるインターネット通信を可能にした。

さらに、UGV の自律走行においては地上の障害物や路面の位置を十分に把握する必要がある、UAV にも増して位置情報の精密さが要求される場合が多い。



図一2 RTK 測位が可能になった UGV

このため 2022 年度の研究では、高精度の位置情報取得方式として RTK-GPS(以下 RTK)の整備を行った。まず、東京情報大の建物に RTK 用のアンテナを設置し、RTK 基準局を運用した。そして、UGV に RTK 用のアンテナを装備させ、RTK 基準局に基づいて補正された高精度の位置情報を取得できるようになった。

IoT センサーと無人機 (UAV と UGV) との情報交換技術確立に関する研究成果として、農地において UGV を走行させる際、畦や畝など微小な凹凸地形が走行の阻害要素となる。UGV の安定的な走行には農地の超微小地形データが求められるが、当該データの整備環境は不十分である。本課題では各種プラットフォームによる農地の三次元地形データの取得を行い、プラットフォーム毎にみるデータ取得や機器の取扱の特性について比較検証を行った。使用したプラットフォームは、UAV (ドローン) と地上レーザースキャナ (TLS) を使用した。計測対象地は、東京情報大学近隣に位置する協力農家の農地を対象とした (図-3)。

その結果、UAV は、対象圃場約 1ha に対して三回の飛行による撮影を行い、その都度バッテリーを交換した。計測時間は合計約 39 分、単位時間あたりの計測面積は 252.76 m<sup>2</sup>/分であった。TLS は 4 つのバッテリーを 1 セットとして使用した。単位時間あたりの計測面積 114.62 m<sup>2</sup>/分であった。これより UAV はバッテリー効率が悪いが、計測時間効率は TLS に比べて良いことが分かる。TLS の取得データを基準とし、生成した値は UAV の取得データによる誤差であるものとする。平均水平誤差は 2.087m であった (表-1、表-2)。これより測量精度からみると、TLS に優位性がみられ、情報化施工へと利用できる地形データの取得に適していると考えられる。



図-3 観測に使用したプラットフォームの対象地

表-1 観測に使用したプラットフォームの比較検証 (観測結果)

2023/1/18	使用バッテリー容量 (%) ①	②	③	計測時間(分)	対象区画面積 (m <sup>2</sup> )
UAV	78%	72%	28%	約39分	9857.585m <sup>2</sup>
TLS	約23%	—	—	約1時間26分	



表一 2 観測に使用したプラットフォームの比較検証（精度）

2023/1/18	特徴点								平均誤差(m)
	T1	T3	T4	T5	T6	T7	①	②	
水平誤差(m)	2.089	2.142	2.124	2.040	2.065	2.096	2.082	2.057	2.087

研究課題 2. 多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索とその機能性・官能評価

(東京農大：高畑・藤川・谷岡・関山・町田、東京情報大：内田・池田)

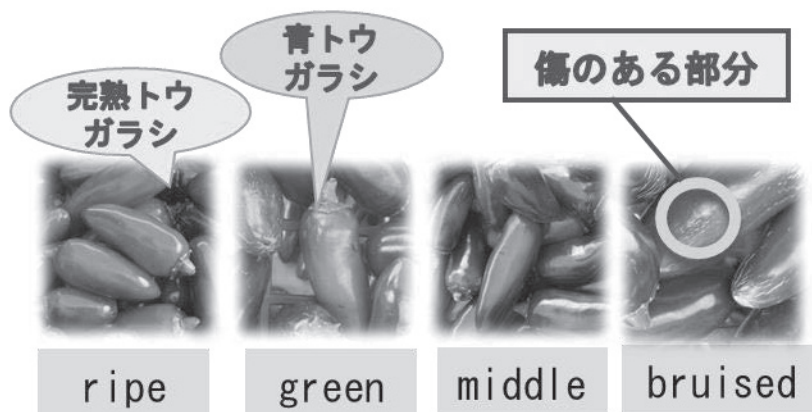
(1) トウガラシの収穫適期や収穫後の品質選別に関する自動システムに関する研究

(東京農大・藤川・町田)

2021 年度の研究成果では、多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索として、色や形で収穫適期を判断するトウガラシを対象に AI を用いた画像判断により収穫可否を判断することができないかを検討した。現場で 4 種類の形状の異なるトウガラシ（牛角大王、プサジュエラ、八房、ハラペーニョ）を対象に、それぞれスマートフォンを用いて 20 枚の写真を撮影し、実際に農家の用いる基準に従ってそれぞれの個体の収穫可否を判断した。この画像に対してブラウザからプログラミング言語「Python」を記述、実行できるサービスである Google Collaboratory をもちいて、収穫可否の情報を入力し、新たな画像に対して人間の判断を再現できるかどうか（正解率）を測定した。

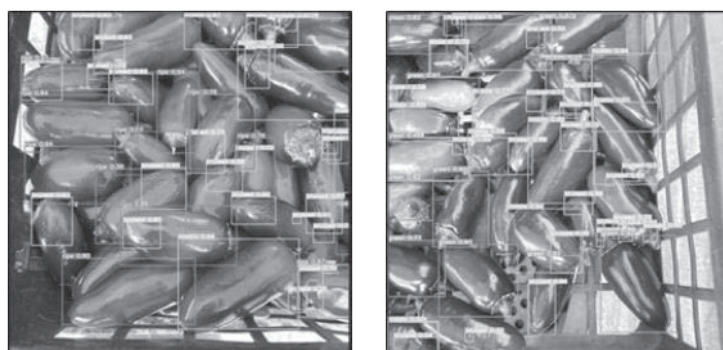
2022 年度は、研究を継続し、就労支援施設と連携し知的障害、精神障害を有する障害者に農作業を委託する団体から、実際に委託しているトウガラシの選別作業についてより詳細な情報を収集した。トウガラシ（八房）は未熟な緑色のものと完熟した赤色のものに商品価値があり、熟度の中間的なものは商品とならないこと、また傷があるものや曲がりのある物は出荷できないが、はっきりとした色の基準がないため、作業ができる人が限られるとのことであった。この情報を元に、トウガラシの写真を撮影し、それぞれのトウガラシに対して緑（Green）、赤（Ripe）、未熟（middle）、きず（bruised）のラベルを与え、その後 AI による判断が可能であるかを検証した（図一4）。

アノテーション（画像から対象物の切り抜き）  
+ ランク付け



図一4 教師データ

検証の結果、カゴの中であれば複数のトウガラシが撮影されている写真であっても AI はトウガラシを認識することができ、また 58 枚の写真から 97%を超える適合率が得られることが分かった（図-5）。一方、比較としてミカンの写真から酸味や糖度、密度を予測するモデルの構築にも取り組んだが、80 枚の写真を用いて構築したシステムの適合率は 20%~50%と低かった。見た目で判断しにくい特性の判断の可否を判断するには、より多くの写真を取得することやそれぞれの特性のランクを減らす（甘い甘くないの 2 段階評価）などの工夫が必要であると考えられる。今後は実際に現場で利用できるように、タブレット端末やウェアブルデバイスなどで動画として撮影しながら品質を判断できるシステムの構築に向けて、システムを改良することが課題となる。



見た目で品質（ランク）を決める  
トウガラシは 96%以上の正答率

図-5 AI による診断

## (2) 特定農作物の機能性と成分特性の把握（東京農大：谷岡・高畑・関山）

特定農作物の候補に挙げられたペピーノは 1983 年に日本に導入された南米原産の果実である。生食・観賞用のアップリンミミーや生食・デザート用のゴールド No.1 など様々な品種が存在する。日本では栽培されたものの糖度が低く、普及、定着には至っていないが、ペピーノの糖度を上昇させるために、ワッシャー（リング）に挿し穂を通し、栽培する技術が確立されている。

2021 年度の研究では、露地栽培、温室栽培ワッシャー処理・未処理区、それぞれ 3 個体を提供頂き、果汁についてアミノ酸、少糖類（スクロース、グルコース、フルクトース）を分析し、さらに、味覚センサーを使用し味の特性を明らかにした。その結果、いずれの個体も、果汁に含まれる遊離アミノ酸量は 100ml あたり 400mg 以上含まれており、特にアスパラギン酸が 90%を占めていた。また、少糖類は、露地やワッシャー未処理区の果汁が、100ml あたり約 6g 程度だったのに対し、ワッシャー処理区は約 9g であった。露地区果汁を基準に味覚センサーでワッシャー処理区の果汁を測定したところ、未処理区に比べ、酸味や旨味こくが強く、苦味が少ない傾向が見られた。また、各処理区果実の黄色の濃淡の違いが観察された。これは機能性成分であるカロテノイドであると推測された。

そこで、2022 年度の研究では先行研究にて糖度上昇が確認されているリング処理技術を用いて栽培されたペピーノと無処理のペピーノのカロテノイドやビタミン C などといった栄養成分の分析を行い、比較することで、ペピーノの特性を活かした新たな活用方法を確立することができるのではないかと考えた。

研究の方法として、試料には、生食・デザート用のゴールド No.1 の無処理のペピーノとリング処理技術を利用し栽培した適熟ペピーノを用いた。ペピーノは、果皮、果肉、果汁に分別し、以下の項目を分析した。果肉の分析項目は、ビタミン C、カロテノイド、水分量、アミノ酸、色差計、果汁は糖度、酸度、pH、ビタミン C、アミノ酸、果皮はポリフェノール量を測定した。

水分量は乾燥助剤添加法により測定した。ビタミンC、カロテノイド、アミノ酸は、高速液体クロマトグラフィーにより測定した。糖度はBrix糖度計（0～30）を用いた。酸度は0.01M水酸化ナトリウムを用いた中和滴定によって得られた滴定値より、クエン酸料として算出した。pHは簡易pHメーターを用いて測定した。ポリフェノール量は、フォーリンチオカルト法により測定した。色差は色差計を用いて測定した。

各成分を分析した結果、リング処理を施したものは無処理のものに比べ、果肉部分に栄養成分が集中するということが明らかになった。ビタミンCの結果をみると無処理、リング処理で総量的にはともに18 mg/100gで違いはなかったが、果汁、果肉間での違いはみられた。果汁では無処理（約8.6 mg/100g）がリング処理（約0.7 mg/100g）より約8倍量ほど多く含んでおり、果肉ではリング処理（約17.9 mg/100g）が無処理（約9 mg/100g）より2倍量ほど多く含んでいることが分かった（図-6）。アミノ酸についても全体的に無処理、リング処理でほとんど総量的には差はなかったが、ほとんどの項目で果汁では無処理の方が多く、果肉ではリング処理の方が多という傾向があった。またイソロイシン、リジン、ヒスチジン、アラニン、チロシンにおいてリング処理が無処理の数値を上回っており、チロシンでは果肉においてリング処理が無処理よりも有意に高いという結果が得られた。これによりリング処理を施すことで先行研究にて明らかになっていた糖度の上昇に加え、果肉部分の栄養成分の増加も明らかになった（表-3）。こうした結果を踏まえ、リング処理を施したペピーノはドライフルーツといった果肉部分を主として使う加工品に向いているのではないかと考えられる。今後は加工による栄養成分の変化を加味した検討が望まれる。

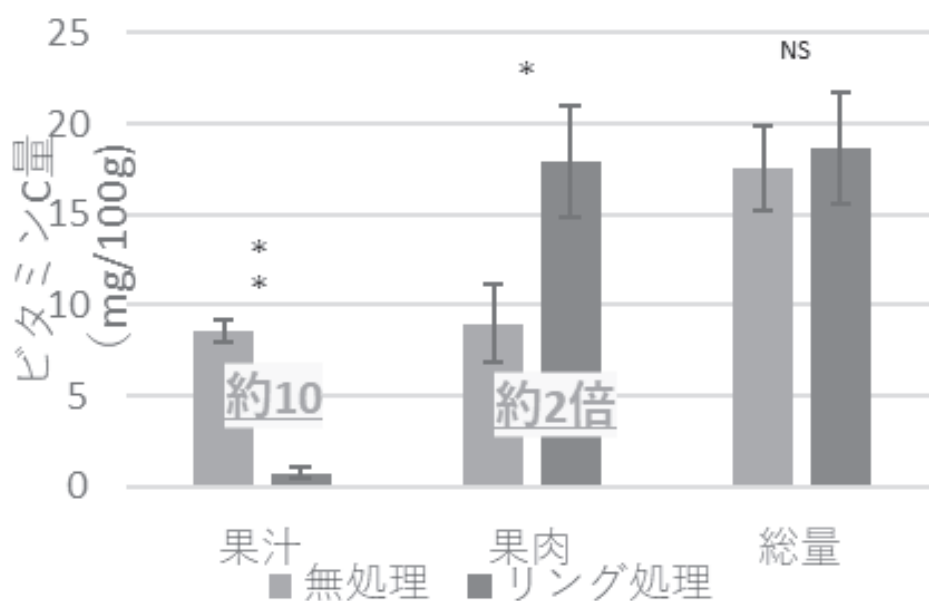


図-6 ペピーノ成分の分析結果

表一3 ペピーノの味に関する分析結果（平均値）

アミノ酸					
果肉 (mg/100g)			果汁 (mg/100g)		
	無処理	リング		無処理	リング
アスパラギン酸	8.79	7.80	アスパラギン酸	5.14	4.69
グルタミン酸	0.08	0.07	グルタミン酸	0.03	0.02
セリン	2.67	4.88	セリン	4.92	2.44
ヒスチジン	6.32	17.73	ヒスチジン	6.79	2.35
グリシン	1.67	1.49	グリシン	1.71	0.75
スレオニン	6.31	4.99	スレオニン	1.09	0.76
アルギニン	0.59	0.78	アルギニン	0.60	0.31
アラニン	0.16	0.44	アラニン	0.38	0.12
チロシン	0.17	0.61	チロシン	0.21	0.01
メチオニン	0.15	0.20	メチオニン	0.06	0.03
バリン	0.15	0.11	バリン	0.12	0.07
フェニルアラニン	0.03	0.04	フェニルアラニン	0.09	0.04
イソロイシン	0.02	0.05	イソロイシン	0.04	0.01
ロイシン	0.04	0.03	ロイシン	0.11	0.05
リジン	0.01	0.06	リジン	0.04	0.02

総量 (mg/100g)		
	無処理	リング
アスパラギン酸	13.93	12.49
グルタミン酸	0.11	0.10
セリン	7.59	7.32
ヒスチジン	13.11	20.08
グリシン	3.32	2.25
スレオニン	7.40	5.75
アルギニン	1.18	1.09
アラニン	0.54	0.56
チロシン	0.38	0.62
メチオニン	0.22	0.22
バリン	0.26	0.19
フェニルアラニン	0.12	0.08
イソロイシン	0.05	0.07
ロイシン	0.15	0.08
リジン	0.04	0.08

注) 赤字の項目で有意差があった

(3) 農大ブランドを生かしたペピーノの官能性評価（情報大内田・池田・東京農業大高畑）

2022年は猛暑によりペピーノの生産量が低く、官能性評価に用いるペピーノを十分に生産できなかったため、官能評価は実施できなかった。

### 研究課題 3. 可視画像及びハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発

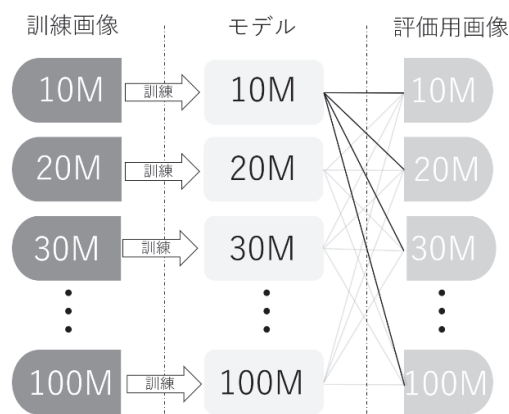
(東京農大：鈴木・関山・情報大：朴)

#### (1) 機械画像を用いた農業カレンダーの自動作成 (情報大・朴)

キャベツの生育ステージ推定における学習モデルの自動作成の研究を行った。2021 年度の研究成果として、機械画像を用いて作物の生育ステージを簡単に推定でき、農業カレンダーも自動的に作成可能になった。また、キャベツの場合は結球の数を自動的に数えられるため収量も推定できるようになった。

2022 年度は、キャベツの生育ステージ推定における分類制度を高めるための学習モデル作成方法についてアルゴリズム開発を進めた。機械学習方法としてはリアルタイム処理が可能な YOLO (You Only Look Once) を用いた。画像取得は DJI 社の P4M (Phantom 4 Multispectral) を用いて地上 10m で、キャベツ生育期間中 2 週間間隔で行った。生育ステージは 3 段階 (定植期、成長期、結球収穫期) に分けて行った。学習データとして、定植期 4050 個、生育期 2895 個、結球収穫期 3555 個、合計 10500 を用い、学習データ (80%) と検証データ (20%) に分けた。

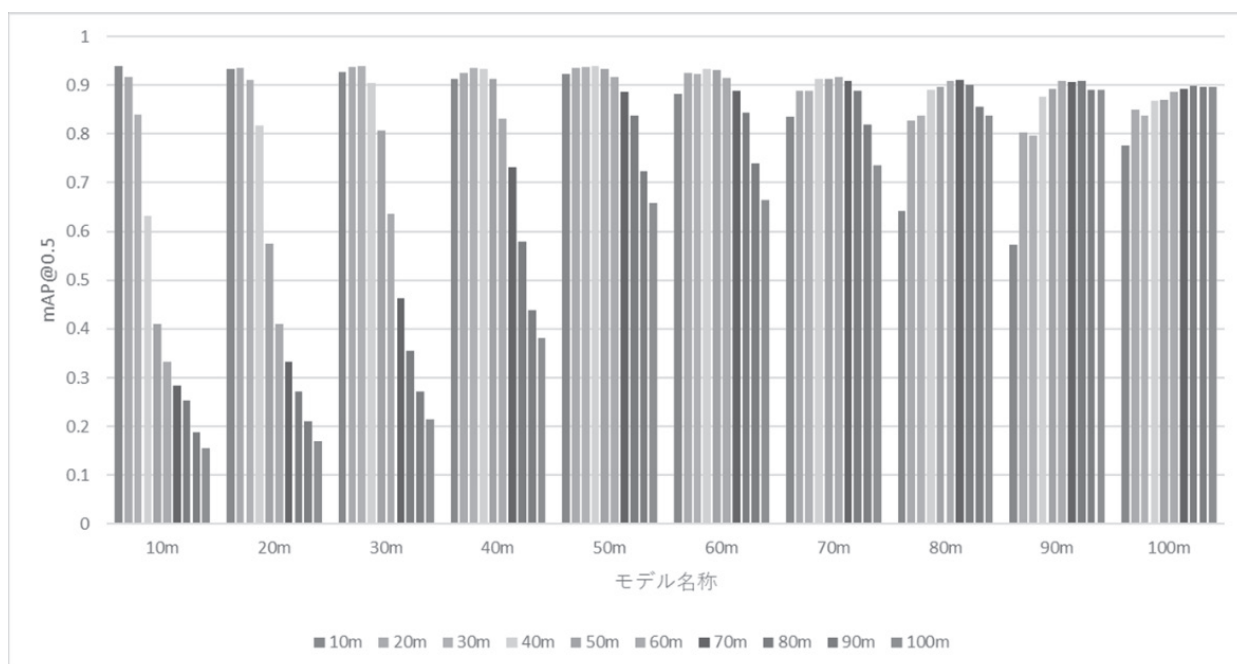
図 7 の実験方法に基づき、高度による異なる解像度画像を用いた精度検証を行った。ドローン画像は飛行高度によって画像解像度が異なり、高度が低いと高解像度であるが観測に時間がかかり、高度が高いと低解像度で広域を短時間で観測できる。解像度が異なる画像による分類精度を調べるために、各高度における学習モデルを作成し分類制度を調べた。高度は 10m (1 画素解像度 0.53cm) から 100m (5.29cm) まで 10m ごとに画像を作成した。



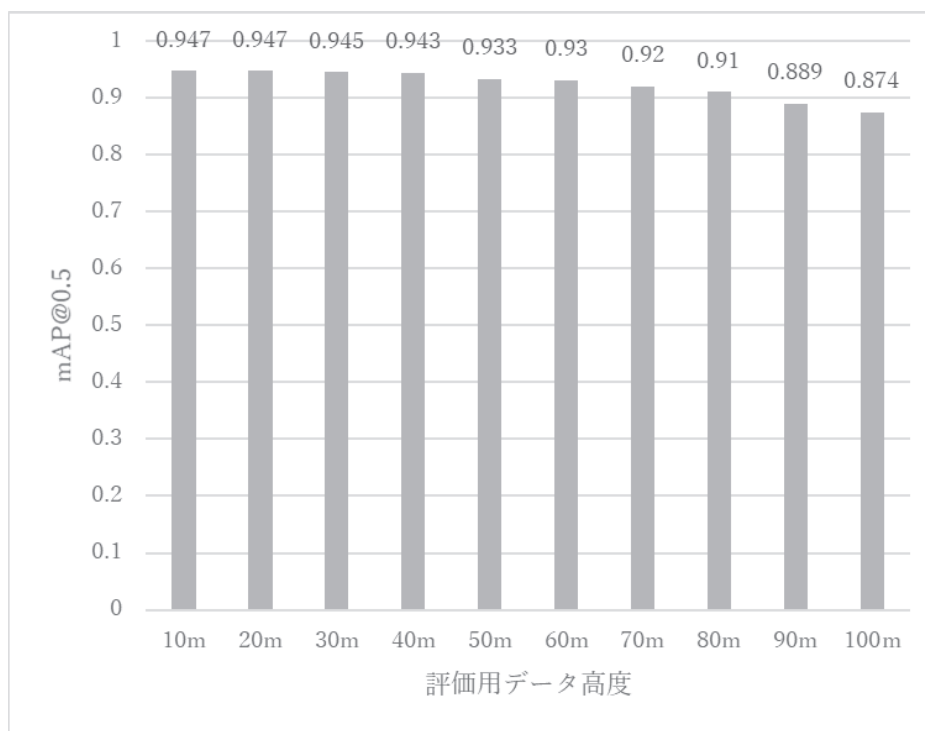
図—7 各モデルの精度検証方法

高解像度画像を用いたモデル (0.53cm : 高度 10m) を用いて、各解像度検証データを識別した結果解像度が低くなるにつれ精度が悪くなることが分かった (mAP@0.5 値は 94% から 16%)。中間解像度 (2.65cm : 高度 50m) では最大 94% から 66% になった。低解像度 (5.29 cm : 高度 100m) モデルによる精度検証は最大 90% から最低 78% になった (図 8)。キャベツのみの画像を用いる場合は低解像度モデルによるキャベツの生育ステージが有効であると考えられる。しかし、背景域 (草や他の農作物) がキャベツとして誤認識する個数が増加した。

そこで、本プロジェクトでは解像度が異なる画像 (10m から 100m) をすべて用いた混合解像度モデルを提案する。図 7 は混合解像度による各解像度検証画像の精度評価結果である。混合解像度モデルを用いることで各解像度のキャベツ生育ステージ推定精度が大きく改善された。10m 解像度モデルと比較すると最低精度が 16% から 87% に、100m 解像度モデルとは 78% から 87% に改善されたことがわかる。



図—8 各解像度モデルによる精度比較



図—9 混合解像度モデルによる各解像度検証画像の識別結果 (mAP@0.5)

図 10 は 4 つのモデル (100m、50m、10m、混合解像度) によりキャベツ生育ステージ推定を行った場合の注目特徴を示したヒートマップ画像である。100m 解像度モデルでは、高解像度画像による識別特徴量の重要度が低くなることがわかる。高解像度モデルでは 50m と 100m 解像度画像の識別は正しく識別できないことが分かった。また、混合解像度モデルを用いた場合は多くのキャベツが正しく識別するための特徴量が抽出されたことが分かった。

	Layer29 (large)		
	10m 解像度	50m 解像度	100m 解像度
100m モデル			
50m モデル			
10m モデル		予測できない	予測できない
混合解像度モデル			

図—10 YOLOv5 によるキャベツ生育ステージ推定結果のヒートマップ画像  
 赤：識別に有効な特徴量領域、青は特徴量として重要ではない領域、灰色は識別できない域

## (2) 高糖度ペピーノ栽培における水分管理の定量化及びスペクトルデータを用いた育成モニタリング測（関山・鈴木・高畑）

2021年度は、特定農作物としてペピーノに着目し、リモートセンシング技術を用いたペピーノの栽培において基礎的な情報収集を行った。その結果、ペピーノ生育環境の基本的な情報として草丈や結実後の果実の大きさ、さらに、気温、湿度、日射量などの気象条件を計測した。

マルチスペクトルデータは農作物のモニタリングにおいて、栽培作物の分類や健康状態の把握、バイオマス推定などの可能性が示されている。遠隔で収集可能なスペクトルデータで育成モニタリングができれば、非破壊によりペピーノの品質評価が行える可能性がある。高糖度果実生産のため、水分ストレスを与えるワッシャー処理技術が確立されているが（高畑ら、2014）、定量的な水分管理は明らかになっていない。

そこで2022年度は、高糖度ペピーノ栽培における水分管理の定量化およびスペクトルデータを用いた育成モニタリングを試みた。研究の方法は、世田谷キャンパスの温室に水分管理が異なる多湿区、対照区、乾燥区の3つの試験区を設置し、各試験区で2株、計6株のペピーノを栽培した。多湿区、対照区、乾燥区の灌水量はそれぞれ1000 mL、750 mL、500 mLとした。灌水量の調整は結実後に開始した。すべての株に水ポテンシャルセンサーを埋設し、灌水後、マトリックポテンシャルが一定になった値を用いてpF値を算出した。成長モニタリングとして草丈の計測、実の糖度計測のほかに、ハイパースペクトルカメラによる全株の上位葉および下位葉の撮影も4回行った（図-11）。



図-11 栽培環境



まず、各株の水分状態として多湿区、対照区、乾燥区の pF は、それぞれ pF=2.0~2.5、pF=3.0~3.5、pF=約 4.0 であった。次に草丈の変化として、乾燥区の草丈は 71 cm であり最も低かったが、対照区の草丈が 108 cm と最も高かった。乾燥区の草丈は、水分ストレス処理開始時から伸長量が徐々に停滞していた (図-12)。このことから、低水分状態が草丈の成長を抑制するが、必ずしも灌水量と草丈が比例関係にないことが考えられた。スペクトルデータから求めた植生指数 NDVI は、全ての試験区で成長に伴い上昇していた。しかし、草丈と同様に乾燥区では水分ストレス処理開始後の NDVI 増加率は他の試験区と比較して小さかった。また、下位葉の NDVI と草丈に相関が示された (図-13)。実の糖度 (Brix) についてはまだ収穫前であるが、現時点で乾燥区において約 10 となり、他の試験区より明らかに高い値を示した。現在、実は登熟期のため収穫に至っていないため収穫までの間、引き続き計測を行い、植生指数や糖度との関係などについて解析中する予定である。なおこの過程において、マトリックポテンシャルの測定に連動した自動灌水システム構築の検討も行ったことを付記する。

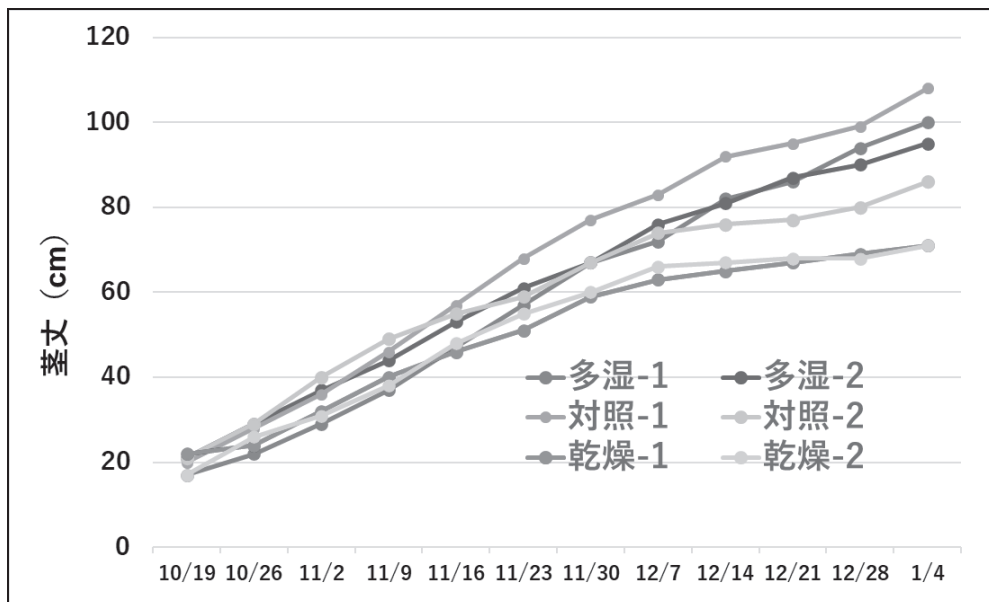


図-12 草丈の変化(10/19~2023/1/4)

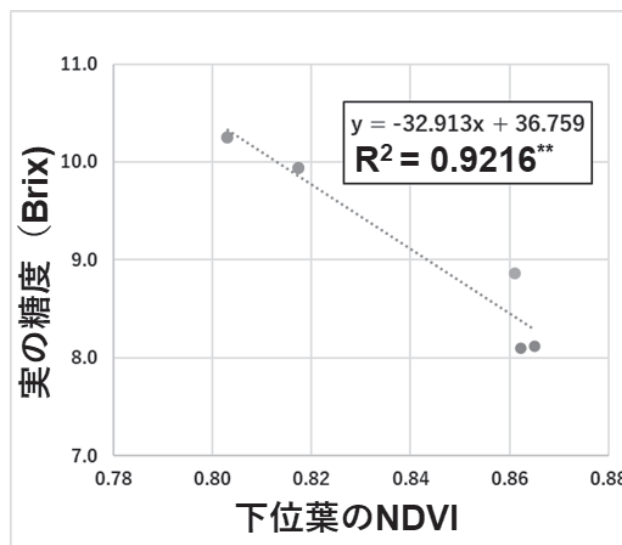


図-13 各区下位葉 NDVI と実の糖度との関係

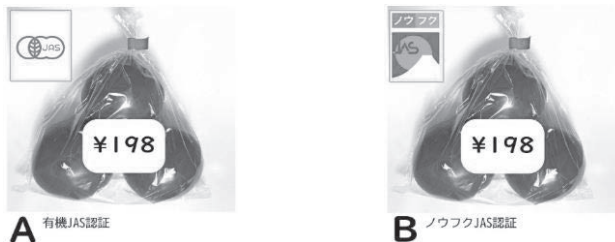
研究課題4. レジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮する栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーションの実装化とその統合評価

(東京農大：大久保ら全員)

(1) 農福連携で生産された農作物の市場性の評価 (東京農大・大久保)

スマート農業技術による農福連携の拡大には、生産された農産物より高値で取引されることが重要となる。近年のエシカル消費に対する消費者の関心の高まりは、障害者を雇用し生産した農産物のプレミアム価格が期待される。そこで、生産に障害者が関与した農産物に対する限界支払意思額を選択型コンジョイントにより経済評価した。分析に用いた農産物は、本プロジェクトで取り組んでいるペピーノは一般的な認知度が低いことが予想されるため、同じナス科で生産技術が近いトマト(3個入り、300g)とした。トマトの属性として、まず農福連携により生産された農産物であることを示す「ノウフク JAS」の有無とした。栽培方法として有機栽培(有機 JAS マークの有無)、減農薬・減化学肥料(特別栽培農産物表示の有無)、そして慣行栽培とした。価格は198円~598円まで、100円きざみの5種類とした。使用するデータは Web 調査によるものである。回答者500人に対して、「買わない」を含めた三者択一の質問を、トマトの属性の組み合わせを変えて8回の質問に回答をしてもらった(図-14)。

1袋に3個入りのトマト(300g、税別)を買う状況を想定してお答えください。次の2種類のトマト(AとB)がある場合、どちらのトマトを買いますか？(またはどちらも買いませんか？) あてはまるものをひとつお選びください。(ひとつだけ) \*回答必須



**A** 有機JAS認証

**B** ノウフクJAS認証

有機JAS認証：「前2年(多年草は3年)以上、化学的な農薬・化学肥料を使用しない農地で生産された有機農産物」  
特別栽培農産物：農薬・化学肥料の使用を地域で通常使われる量の50%以下で生産された農産物。  
ノウフクJAS認証：「障害者が生産工程に携わった食品」として認証された農産物。  
※有機JAS認証および特別栽培農産物の表示がないものは、通常どおり化学的な農薬と化学肥料が使用されています。

図-14 コンジョイント分析の質問例(属性水準が異なる質問を8回実施)

分析結果をまとめると次の通りである。第1に、選択型コンジョイント分析の結果、ノウフク JAS 認証表示のあるトマトへの限界支払意思額は194円であった。また、有機 JAS 認証表示に対しては505円、特別栽培農産物表示に対しては381円であった。これらのことから、農福連携で生産された農産物に対する価格プレミアムが確認されたが、あわせて有機 JAS 認証を取得する、もしくは地域の慣行栽培水準の50%以下で減農薬・減化学肥料栽培をすることでより価格プレミアムを向上することが確認された。第2に、農福連携のことを知らない回答者が全体の78.6%、障害者雇用への関心がある回答者が30.8%であった。その中で、障害者雇用に対する関心のある消費者は、限界支払意思額がさらに234円引き上げられることが確認された(表-4)。これらの結果より、農福連携の拡大に向けて、生産の面ではより収益を向上させるために有機栽培を想定し、技術的な補完を可能にするスマート農業技術が必要となる。また、障害者雇用に関心のある消費者は農福連携で生産された農産物(ノウフク連携 JAS 表示)に対する支払意思額がより高くなることから、消費者に対する認知度向上と問題意識の啓発が必要となる

表一4 選択型コンジョイント分析の結果

変数	係数	z値	限界支払意思額
ノウフクJAS	0.60	10.11 ***	194円
有機JAS	1.55	27.72 ***	505円
特別栽培農産物	1.17	20.67 ***	381円
ノウフクJAS×障害者雇用への関心	0.72	7.74 ***	234円
価格	$-3.07 \times 10^{-3}$	-23.28 ***	
サンプル数：12,000			

注) \*\*\*は1%有意水準を示す。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

アウトリーチに至った成果はまだない。しかし、本研究のプロジェクト内容を千葉市農政課が興味・関心を持ち、ペピーノは高畑教授の指導のもと、千葉市農政センターでも試行栽培を行う予定である。また、本プロジェクトにより構築された機械画像を用いた農業カレンダーの自動作成についても千葉市農政センターとの連携の可能性が検討されている。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本プロジェクトでは、栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーション（RPA：事業プロセス自動化技術）実装化とその経済性の確立し、多様な人々の農作業支援を目指した援用システムの実証評価手法の構築を目指してきた。

本プロジェクトの成果としては、栽培、管理、収穫に至る研究技術は、可視画像やリモートセンシング技術を用いた農業カレンダーの自動作成等のアルゴリズム開発や、これまで低価格での開発が難しかったUGV開発、福祉現場と協働で画像診断による収穫・選別支援システムの構築は試行できた。さらに、本プロジェクトの成果を東京農業大学と東京情報大学が持つブランド力で社会実装を加速化させるため、農大ペピーノを特定農作物として機能性評価に基づく果肉部分を主として使うペピーノ加工品の可能性や高糖度のペピーノ栽培に向けた水分管理の定量化の可能性が示唆された。

最後に、これからの研究成果を経済性からみた評価では、市場調査より、農福連携で生産された農産物（ノウフク連携JAS表示）に対する支払意思額がより高くなることが明らかになった。さらに、農福連携の拡大に向けて、生産の面ではより収益を向上させるために技術的な補完を可能にするため、本研究が提案したようなスマート農業技術の社会有用性は確認できた。

一方で、本研究で開発したスマート農業の社会実装を図る上で研究課題も残された。例えばUGV開発で取得した位置情報の精度については簡易的な確認してできておらず、今後正確な精度の算出が必要である。また、当初予定していた自律走行の実現には至っておらず、本プロジェクトで得られたデータをUGVへの展開に向けた研究推進方策が今後の課題となった。

また、特定農作物の、栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーション（RPA：事業プロセス自動化技術）のシステム構築は、異常気象等も影響し予定通り実験計画を進めることができず、RPAの一連のシステム構築は今後の課題となった。

## 10. 公表した成果一覧

### 研究発表

- 1) 張九勻・朴 鍾杰 (2021)、深層学習によるキャベツの株単位の生育ステージ推定、令和4年度年次学術講演会発表論文集（オンライン開催）、日本写真測量学会

### その他

- 1) 町田怜子・朴 鍾杰 文責(2022)、〔研究&教育 最前線〕Society5.0 社会におけるレジリエンス農業の確立に向けたロボティック・プロセス・オートメーション（RPA）実装の加速化 東京農業大学・東京情報大学研究プロジェクト、新・実学ジャーナル 12月号、学校法人東京農業大学.
- 2) 藤川智紀 (2023) : 2024 大学案内 探求する農学研究「実の熟度を見分ける AI を開発し農と福祉の連携につなげる」、学校法人東京農業大学.

# 2022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)
耐塩性を向上させる <i>SALT</i> 遺伝子欠損を利用したゲノム編集作物育種への展開	2,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
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	<i>SALT</i> 遺伝子の機能解析
研究代表者 (農研機構)	有賀 裕剛	遺伝資源研究センター・研究員	<i>SALT</i> 遺伝子のトマト・コマ ツナにおけるゲノム編集とベ クター作成

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

灌漑農業の弊害として生じる塩害は農作物の減収を引き起こす大きな問題であり、砂漠化の主要原因でもある。これまでに多くの研究者が植物の耐塩性を向上させるための基礎研究、さらにはその成果を利用した作物育種に取り組んできたものの、未だに応用面で十分な成果が得られていない。モデル植物のシロイヌナズナは、世界中の様々な地域に生息し、これまでに 2000 系統以上収集されている。これらは様々な環境条件に適した結果、同じ種でありながらそれぞれ地理的にも遺伝的にも分化したと考えられる。先行研究において、シロイヌナズナ野生系統の耐塩性を評価したところ、極めて高い耐塩性を示す野生系統を発見した。その耐性はシロイヌナズナ近縁の塩生植物（海水程度の塩ストレス下でも生育可能な植物）と同程度という、驚くべき耐塩性であった。遺伝学的解析の結果、その耐塩性がたった 1 つの遺伝子 (*SALT* 遺伝子) の欠失によって付与されることを突き止めた。すなわち、*SALT* 遺伝子をターゲットにしたゲノム編集により、作物に耐塩性を付加させることが可能になると考えられた。

## 5. 研究目的

本研究課題では、*SALT* 遺伝子欠損による耐塩性獲得メカニズムの解明、加えて、社会実装に向けた応用研究として、市場価値の高いトマトとイネ、シロイヌナズナと同科近縁のコマツナの *SALT* 相同遺

伝子をゲノム編集し、得られた植物の耐塩性や収量評価することを目的とする。耐塩性作物の作出は、塩害地域での収量増加（高付加価値化）や当該国への輸出に貢献しうる。

## 6. 研究（実験）方法

### 1) SALT 遺伝子の機能解析（東京農業大学）

極めて高い耐塩性を示すシロイヌナズナ野生系統の原因遺伝子 (*SALT*) を同定したものの、*SALT* 遺伝子がどのように耐塩性に寄与するのか不明である。そこで以下の機能解析に取り組む。

#### ① *SALT* 遺伝子の様々なストレス応答性解析

*SALT* 遺伝子の機能特性の理解を目的に様々なイオン応答性を調べる。

#### ② *SALT* 遺伝子の細胞内局在解析

*SALT-GFP* 導入シロイヌナズナを作出し、*SALT* 遺伝子の細胞内局在を明らかにする。

### 2) ゲノム編集ベクターの開発・gRNA 設計・コンストラクション（農研機構）

双子葉植物については複数遺伝子同時にゲノム編集可能なベクターを作製したものの、単子葉植物で同様のゲノム編集を実現するベクターがないため、これを開発する。

### 3) トマト (Micro-Tom) ・イネにおける *SALT* 相同遺伝子のゲノム編集（東京農業大学）

トマトおよびイネにおける *SALT* 相同遺伝子をデータベースにて検索したところ、それぞれ 2 遺伝子ずつ存在することが示唆された。そこでトマト（実験種の Micro-Tom）・イネともにシングル・ダブル変異株の取得を目標に gRNA を設計し、形質転換を行う。

### 4) トマト (栽培種) ・コマツナにおける *SALT* 相同遺伝子のゲノム編集（農研機構）

農研機構ではトマト栽培系統の形質転換系が確立している。そこでトマト栽培系統においてもゲノム編集を実施し、*SALT* 相同遺伝子変異株の取得を試みる。加えて、シロイヌナズナと同科のコマツナにおいてもゲノム編集による *SALT* 相同遺伝子変異株の取得を試みる。

### 5) シロイヌナズナ耐塩性変異株の単離（東京農業大学）

*SALT* 遺伝子が寄与する耐塩性シグナル伝達機構の解明を目的に、シロイヌナズナ実験系統の Col-0 に突然変異 (EMS) 処理した突然変異系統から耐塩性獲得株のスクリーニングを行う。

## 7. 研究成果

### 1) *SALT* 遺伝子の機能解析（東京農業大学）

#### ① *SALT* 遺伝子の様々なストレス応答性解析

*SALT* 遺伝子の機能特性を理解するため、シロイヌナズナにとってストレスとなる様々な栄養環境下での生育を調べた。耐塩性系統やおおよそ *SALT* 遺伝子座のみ耐塩性系統由来となる準同質遺伝子系統 (NIL) は、いくつかの必須栄養に対して耐性、あるいは逆に高感受性を示すことを発見した。なお、シロイヌナズナのゲノム上、*SALT* 遺伝子と最も相同性の高いパラログ遺伝子の変異株については、耐塩性の向上が認められなかった。

#### ② *SALT* 遺伝子の細胞内局在解析

実験系統の Col-0 野生株より機能的な *SALT* 遺伝子をクローニング後、GFP 遺伝子を融合し、耐塩性を示す NIL に形質転換して *SALT* 遺伝子の細胞内局在を観察した。その結果、*SALT* の細胞内局在を明らかにすることに成功した。*SALT-GFP* 遺伝子が機能的なのか確認するため、*SALT-GFP* 植物の耐塩性を調べたところ、親株である NIL と比較して耐塩性の低下 (Col-0 程度) が認められたことから、*SALT-GFP* 遺伝子は機能的であり、示された局在は機能的な *SALT* タンパク質の結果と考えられた。

## 2) ゲノム編集ベクターの開発・gRNA 設計・コンストラクション (農研機構)

双子葉植物については複数遺伝子同時にゲノム編集可能なベクターを作製したものの、単子葉植物で同様のゲノム編集を実現するベクターが無かった。そこで Cas9 カセットを有したバイナリーベクター、pZH-ZmUC9 を作成した。このバイナリーベクターには 1 つの gRNA を導入することが出来る。2 つ目あるいは 3 つ目の gRNA をクローニングするベクターとして、pUC\_OsgRNA を作成した。このベクターは pZH-ZmUC9 と制限酵素サイトを連動させており、2 つ目の gRNA を切り出す、あるいは導入する制限酵素セットと、3 つ目の gRNA を切り出す、あるいは導入する制限酵素セットが異なるため、pZH-ZmUC9 に 2 つ目、3 つ目の gRNA 導入が可能となっている。

## 3) トマト (Micro-Tom) ・イネにおける SALT 相同遺伝子のゲノム編集 (東京農業大学)

トマトおよびイネにおける SALT 相同遺伝子をデータベースにて検索したところ、それぞれ 2 遺伝子ずつ存在することが示唆された。そこでトマト (実験種の Micro-Tom) ・イネともにシングル・ダブル変異株の取得を目標に gRNA を設計し、2) で作成したベクターへ導入した。現在、Micro-Tom、イネともに形質転換を進めているものの、現時点において形質転換体は獲られていない。

## 4) トマト (栽培種) ・コマツナにおける SALT 相同遺伝子のゲノム編集 (農研機構)

農研機構ではトマト栽培系統の形質転換系が確立している。そこでトマト栽培系統 (MoneyMaker) においてもゲノム編集を実施し、SALT 相同遺伝子変異株の取得を試みた。その結果、SALT 相同遺伝子 A、B のいずれにも変異が生じた二重変異株を 3 系統得ることに成功した。3 系統はいずれも A、B 遺伝子ともにバイアレリック変異が生じており、次世代は全て二重変異株として各種の試験に用いることが可能である。加えて、シロイヌナズナと同科のコマツナにおいてもゲノム編集による SALT 相同遺伝子変異株の取得を試みた。現在までに、アグロバクテリウム感染させた胚軸片から不定胚の誘導に成功した。

## 5) シロイヌナズナ耐塩性変異株の単離 (東京農業大学)

SALT 遺伝子の発見により、シロイヌナズナの耐塩性を著しく高める新奇メカニズムが明らかになりつつある。SALT 遺伝子が寄与する耐塩性シグナル伝達経路の解明手段として、同様に耐塩性が著しく向上する変異株の単離が有効と考えられた。そこでシロイヌナズナ実験系統の Col-0 に突然変異 (EMS) 処理した突然変異系統から耐塩性獲得株のスクリーニングを行った。これまでに約 3,000 の幼植物を用いたスクリーニングを実施したところ、いくつかの耐性候補株を単離し、少なくとも次世代においても耐塩性の遺伝が確認出来た変異株を 3 つ得ることに成功した。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特に無し。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

SALT 遺伝子欠損により耐塩性が向上するメカニズムについて、植物体への Na<sup>+</sup>取り込みを検証するため、放射性同位体を用いた Na<sup>+</sup>輸送を調べる予定である。また細胞内への取り込みについては、酵母の様々な Na<sup>+</sup>高感受性変異株を用いた相補試験を進めている。また、現時点においてイネと Micro-Tom の SALT 遺伝子ゲノム編集個体は得られておらず、変異株獲得を継続する。一方、トマト栽培種において SALT 相同遺伝子 A、B の二重変異株の取得に成功した。次世代種子を獲得後、耐塩性評価および生育への影響を調べる。耐塩性の向上が認められれば、SALT 遺伝子欠損による耐塩性作物の作出について権利化するため、特許申請を進める。SALT 遺伝子欠損は、現時点ではシロイヌナズナに限られるものの、これまでにない耐塩性の向上が認められる有用遺伝子と考えられる。他研究機関や企業と協力体

制を模索し、塩害地での栽培を検討したい。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Kajino T, Yamaguchi M, Oshima Y, Nakamura A, Narushima J, Yaguchi Y, Yotsui I, Sakata Y, Taji T. KLU/CYP78A5, a cytochrome P450 monooxygenase identified via FOX hunting, contributes to cuticle biosynthesis and improves various abiotic stress tolerances. **Frontiers in Plant Science** (IF=6.6) 13:904121 (2022) doi: 10.3389/fpls.2022.904121
- 2) Fukuda N, Oshima Y, Ariga H, Kajino T, Koyama T, Yaguchi Y, Yotsui I, Sakata Y, Taji T. *ECERIFERUM 10* encoding an enoyl-CoA reductase plays a crucial role in osmotolerance and cuticular wax loading in Arabidopsis. **Frontiers in Plant Science** (IF=6.6) 13:898317. (2022) doi: 10.3389/fpls.2022.898317
- 3) Miao Y, Xun Q, Taji T, Tanaka K, Yasuno N, Ding C, and Kyozuka J. *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION2* controls multiple steps in panicle formation through common direct target genes. **Plant Physiology** (IF=8.4) 189(4):2210-2226 (2022) doi: 10.1093/plphys/kiac216.
- 4) Uchida K, Yamaguchi M, Kanamori K, Ariga H, Isono K, Kajino T, Tanaka K, Saijo Y, Yotsui I, Sakata Y and Taji T. MAP KINASE PHOSPHATASE1 promotes osmotolerance by suppressing PHYTOALEXIN DEFICIENT4-independent immunity. **Plant Physiology** (IF=8.4) 189(2):1128-1138. (2022) doi: 10.1093/plphys/kiac131.
- 5) Tsukimoto, R., Isono, K., Kajino, T., Iuchi, S., Shinozawa, A., Yotsui, I., Sakata, Y., Taji, T. Mitochondrial fission complex is required for long-term heat tolerance of Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology** (IF=4.9) 63(3), 296-304 (2022) doi: 10.1093/pcp/pcab171.
- 6) Sk R, Miyabe MT, Takezawa D, Yajima S, Yotsui I, Taji T, Sakata Y. Targeted in vivo mutagenesis of a sensor histidine kinase playing an essential role in ABA signaling of the moss *Physcomitrium patens*. **Biochem Biophys Res Commun** (IF=3.9) 2022; 637: 93-99. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.11.009
- 7) Toriyama, T., Shinozawa, A., Yasumura, Y., Saruhashi, M., Hiraide, M., Ito, S., Matsuura, H., Kuwata, K., Yoshida, M., Baba, T., Yotsui, I, \*Taji, T., Takezawa, D., Sakata, Y. Sensor histidine kinases mediate ABA and osmostress signaling in the moss *Physcomitrium patens*. **Current Biology** (IF=10.8) 32(1) 164-175 (2022) doi: 10.1016/j.cub.2021.10.068.

### Web 著書

耐性のことは耐性植物に聞け (植物科学のトビラ)

[https://interview.plant-resilience.jp/teruaki\\_taji/](https://interview.plant-resilience.jp/teruaki_taji/)



### 学会発表

- 1) 耐塩性シロイヌナズナが有する耐塩性機構の遺伝学的解明 梶野拓磨、太治輝昭、他 日本植物生理学会 (仙台) 2023年3月15日



2) KLU/CYP78A5 はクチクラワックス合成に関与し様々な非生物学的ストレス耐性を向上させる 梶野拓磨、太治輝昭、他 日本植物バイオテクノロジー学会 (堺) 2022 年 9 月 12 日

プレスリリース

砂漠環境でも育つ植物遺伝子 東京農業大学が発見 (日本経済新聞\_電子版 2022 年 6 月 24 日)

<https://www.nikkei.com/article/DGXZQOUC23A9J0T20C22A6000000/>



# 2022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 数岡 孝幸

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
農研機構開発の準同質遺伝子系統を利用した対象遺伝子の酒米利用のポテンシャル評価	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	数岡 孝幸	応用生物学部 醸造科学科・准教授	サンプル米の醸造試験
研究代表者 (農研機構)	堀 清純	農研機構 作物研究部門作物遺伝子機能評価グループ・グループ長	サンプル米の調製、発送、遺伝子型確認
研究分担者	辻井 良政	応用生物科学部 農芸化学科・教授	サンプル米の搗精、穀粒品質の評価
	田中 淳一	農研機構 作物研究部門スマート育種基盤研究領域オーダーメイド育種基盤グループ・上級研究員	準同質遺伝子系統の圃場栽培、農業形質調査
	谷口洋二郎	農研機構 作物研究部門スマート育種基盤研究領域オーダーメイド育種基盤グループ・上級研究員	準同質遺伝子系統の圃場栽培、農業形質調査

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

清酒醸造に関与する生物として麹菌、酵母菌、イネがあげられる。これら生物の中で醸造特性に関与する遺伝子の解析が特に酵母で進んでいるが、イネについては QTL 解析の報告があるのみで、酒造好適米がどのような遺伝子を持つべきなのか等の酒米品種の遺伝的基礎に関する知見が少ない。

## 5. 研究目的

本研究では、農研機構が多収量良味米品種の「あきだわら」に機能欠損型の遺伝子アレルを導入して開発した3つの準同質遺伝子系統について、理化学特性および醸造特性を評価して、導入した遺伝子が酒米特性に与える影響を確かめる。それによって酒造好適米が保持すべき遺伝子を明らかにすることを

目的とする。あわせて、本プロジェクトの成果を今後の品種育成に利用することも目的とする。

## 6. 研究（実験）方法

試料：あきだわら、あきだわら背景 *sbe1* 導入系統（アミロペクチン短鎖の増加）、あきだわら背景 *GW2* 導入系統（米粒の幅・重さの増加）、あきだわら背景 *OsNRAMP5* 導入系統（土壌中からのカドミウム、マンガンの吸収抑制）、酒造好適米の山田錦を精米歩合 70%となるように搗精して使用した。

### 1. 基礎データ

乾物千粒重、スキャナー（GT-X970 エプソン販売株式会社製）による粒の大きさ、心白発現率、NC コーダー（SUMIGRAPF NC220F 住友分析センター社製）によるタンパク質含有率、ミネラル量（ICPS-8100 Shimadzu 社製）の基礎データを取得した。

### 2. 理化学的特性試験

米胚乳酵素活性量、炊飯特性値（加熱吸水率、膨潤容積、還元糖量、全糖量、ヨウ素吸収スペクトル、最大吸収波長）、アミロース比率、アミロペクチン鎖長分析、米飯物性測定値、タンパク質の局在のデータを取得した。

### 3. 澱粉分解性試験

精製澱粉に  $\beta$ -アミラーゼ（0.04units/mL、シグマ社製）を添加し、インキュベート（37°C、4h、6h）した。生成した還元糖をソモギー・ネルソン法にて測定した。

### 4. 清酒小仕込み試験

総米 1 kg で麴歩合 20%、汲み水歩合 150%とし、添、仲、留はそれぞれ 15°C、10°C、8°C、醪最高温度は 13.5~14°Cを目安に醪を育成した。酒母は高温糖化醗をたてた。醪日数は 25 日とし、上槽は遠心分離で行った。留後 4~8 日目の Brix 糖度とアルコール度を測定すると共に、製成酒の一般成分分析（アルコール度、日本酒度、酸度、アミノ酸度）を測定した。

## 7. 研究成果

### 1. 基礎データの比較

外観的特徴の変化として、粒の大きさ（mm<sup>2</sup>）および心白発現率（%）を比較したところ、あきだわらが 13.7±0.69、10 であったのに対して *GW2* 導入系統は 15.5±0.86、60 であり、有意に増加していたが、酒造好適米である山田錦の 16.4±0.75、98 には及ばなかった。また、蓄積マンガン量（mg/g）については、あきだわらが 0.0040 に対して *OsNramp5* 導入系統は 0.0015 であり、有意に含有量が減少していた。

### 2. 理化学的特性試験の比較

炊飯外液中の還元糖量（mg/g）および全糖量（mg/g）は、あきだわらが 1.69±0.29、72.44±27.4 であったのに対して *Sbe1* 導入系統は 3.62±0.29、157.84±6.56 であり、それぞれが有意に増加していた。また、膨張容積（mm<sup>3</sup>）、加熱吸水率（%）は、あきだわらが 8732±634、353±5.43 であったのに対して *GW2* 導入系統は 7654±435、301±20.0 であり、有意に低下していた。また、炊飯における米粒の崩壊が小さかった。米飯における CBB 染色による細胞の観察では、あきだわらは細胞が膨潤し、一つ一つの細胞の大きさが増加している傾向が観察できた一方で、*GW2* 導入系統は細胞の大きさが増加しているというよりも、小さな細胞が密に詰まっている傾向がみられた。澱粉に関して、アミロース比率（%）を算出したところ、あきだわらの 16.0±0.37 に対して *Sbe1* 導入系統は 13.7±0.76 であり、有意に低下していた。また、アミロペクチン短鎖比は、あきだわらが 3.00 に対して *Sbe1* 導入系統は 3.29 となり、有意に増加していた。米飯の物性について表面および全体の硬さ（gw/cm<sup>2</sup>）をみたところ、あきだわらは 73.7±16.8、

2057±258 であったのに対して GW2 導入系統は 84.2±20.1、2168±291 であり、GW2 導入系統があきだわらよりも硬いことが示された。なお、酒造好適米である山田錦は 86.0±23.1、2434±271 という最も高い数値を示した。

### 3. 酵素による分解性の比較

4 時間の分解反応では、生成した還元糖(mg/g)において山田錦 (72.9±7.0) は他の系統と有意な差異はなかった。しかし、6 時間の反応後で比較すると、あきだわら (80.4±5.9) やコシヒカリ (74.6±8.7) と比較して山田錦 (99.9±9.3) は有意に高い値を示した。

### 4. 清酒小仕込み試験

留後 4~8 日目の山田錦とあきだわらおよび 3 つの遺伝子導入系統の Brix 値を測定したところ、いずれも 5 日目にもっとも高い値を示していた。あきだわらへの遺伝子導入の影響は、SbeI 導入系統でみられ、SbeI の機能欠損によって留後 5 日目の Brix 糖度が上昇していた。これは、SbeI 機能欠損によってより多くの糖が生成しやすくなっていることを示している。また、製成酒の一般性分析を実施し、あきだわらと SbeI 導入系統を比較したところ、アルコール度数、アミノ酸度、日本酒度の数値が高くなっていた。これは、SbeI 機能欠損によって米が溶けやすくなり多くのアルコールとアミノ酸が生成していたことを示しているが、一方で日本酒度の数値も高くなっていることから醪初期の糖生成は多いが、醪後期では糖の生成はあきだわらと同等かそれよりも遅くなっていると予想される。GW2 導入系統に着目すると、日本酒度、アミノ酸度、アルコール度の数値が低くなっていた。これは、GW2 機能欠損によって米が溶けにくく、つまり硬くなっていることを示していた。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究によって、あきだわらへの 3 つの機能欠損遺伝子の導入によって期待される変化を、米の理化学的特性と清酒小仕込み試験を実施することで確認することができ、米の遺伝子の醸造特性への影響を明らかにすることが出来た。今後、米の醸造特性に関与する様々な遺伝子の特定と評価の継続的な実施が期待される。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

米はその年の天候によって品質が違ってくる。そこで、異なる年度に収穫した米を用いて同様の評価を行うことで結果の信頼性が向上する。そこで、今後も本研究を継続する。また、本プロジェクトによって、3 つの米の遺伝子の醸造特性への影響を明らかにすることができた。醸造特性に関与する遺伝子は他にも多くあると予想され、それらの解明を実施していきたい。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 堀清純・新井田佳林・谷口洋二郎・田中淳一・辻井良政・数岡孝幸、GW2、Sbe1、OsNramp5 遺伝子を導入したあきだわら系統における酒米利用に向けた評価、日本農芸化学会 2023 年度大会、2H02-04

# 2022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)
ゲノム編集技術および海外遺伝資源や突然変異系統選抜による巨大胚コムギの作出	1,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	西尾 善太	農学部 農学科・教授	研究総括・胚芽長の測定・胚芽由来有効成分の調査
研究代表者 (農研機構)	小林 史典	農研機構 作物研究部門・上級研究員	遺伝解析・突然変異系統の生育調査
研究分担者	安倍 史高	農研機構 作物研究部門・上級研究員	RNA 干渉系統およびゲノム編集系統の作出
	水野 信之	農研機構 作物研究部門・任期付研究員	遺伝解析・突然変異系統の生育調査
	八田 浩一	農研機構 作物研究部門・グループ長補佐	遺伝解析・突然変異系統の生育調査
	藤郷 誠	農研機構 作物研究部門・主任研究員	遺伝解析・突然変異系統の生育調査

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景 (当初)

我が国の主食であるイネ(コメ)の年間の一人当たりの消費量は、ピークの1965年には111.7kgあったが、2022年は50.9kgと半分以下に減少した。その一方、パン、ラーメン、うどんや菓子などの幅広い食品の原料となるコムギの需要は安定しており、一人当たりの消費量は、同期間で29.0kgから31.7kgにやや増えた。このため、日本人が摂取するカロリーのうち、コムギの占める割合は相対的に増加している。コムギやコメの可食部である子実には、主に栄養分を蓄える胚乳と、発芽して成長を始める胚芽が存在する。この胚芽には、胚乳にほとんど含まれないビタミンEや脂質、ミネラルなどの重要な栄養素が多く含まれる。このため、製粉工程において胚乳や種皮から分離された胚芽は、高価なコムギ胚芽

油の原料や、健康補助食品の原料とされる。しかし、通常コムギの胚芽は、子実の重量のうち約 2%とかなり少ないため、小麦粉（胚乳）やふすま（種皮）と比べて非常に高価である。近年、わが国のイネの品種改良では、胚芽に含まれる有用成分に着目し、通常のイネ品種の約 3 倍の大きさの胚芽を有する巨大胚品種「はいみのり」や「金のいぶき」等の高い付加価値を有する品種が開発された。一方、コムギの胚芽サイズの品種間差に関する研究はほとんど報告されておらず、巨大胚品種も開発されていない。

## 5. 研究目的

応募者らは 2021 年度の東京農大と農研機構のマッチングファンド型共同研究において、巨大胚コムギ作出の有望な遺伝資源として、赤皮赤、ナンブコムギ等の複数品種や、主要品種のきたほなみの巨大胚変異系統を見出すとともに関連する DNA マーカーを同定する等、巨大胚コムギの開発の端緒となる成果を得ることに成功した（日本育種学会にて発表）。そこで本研究では、コムギがもつイネ巨大胚原因遺伝子のオルソログ（同祖遺伝子）や新規の海外遺伝資源が持つ巨大胚特性に着目して本研究を強力に推進する。具体的には、最近コムギで実用化されたゲノム編集により、六倍体のコムギが持つ 3 つのイネの巨大胚原因遺伝子のオルソログ（同祖遺伝子）を同時に改変することにより、実用的な巨大胚コムギ品種を早急に開発する。また、新規のコムギ遺伝資源や突然変異体について、昨年開発した DNA マーカー選抜を活用して付加価値の高い巨大胚品種を見出してその有用成分を明らかにし、早期の実用化を目指す。

## 6. 研究（実験）方法

1) コムギコアコレクションおよび新規の海外遺伝資源のサンプル調整と胚芽サイズの評価（農研機構作物研究部門・東京農業大学）

本研究では、農研機構・農業生物資源ジーンバンクの日本のコムギコアコレクション（96 品種）およびジーンバンクに保存されているコムギ遺伝資源から子実のサイズで選抜した約 1000 系統、さらに作物研究部門で作出された「きたほなみ」の巨大胚突然変異体を用いる。コムギの胚芽サイズは、これまで東京農業大学において開発したスキャナとペンタブレットを用いた胚芽サイズの計測法を用いて評価する。また、本コレクションは、これまでのゲノム解析で 1 万を超える一塩基多型（SNPs）情報が蓄積されており、昨年の研究で有望な遺伝資源として、赤皮赤、ナンブコムギ、タクネコムギ等の品種を複数見出した（岡田ら 2021）。そこで今年度は、巨大胚をもつ可能性がある新規の海外遺伝資源を中心に、胚芽サイズの評価とこれまでの解析で得られた巨大胚に関連する DNA マーカーの解析を行う。

2) 国内主要コムギ品種の巨大胚関連 DNA マーカーの多型分析および巨大胚コムギ選抜に最適な DNA マーカーの開発（農研機構作物研究部門）

次世代シーケンサーを用いたコムギコアコレクションの解析等の先行研究の蓄積のある作物研究部門において、複数の年次と環境において収穫されたコムギコアコレクションおよび遺伝資源について、ゲノムワイドアソシエーション解析等を行い、コムギの胚芽サイズ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 マーカーを開発し、作物研究部門において、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巨大胚に関連する遺伝子型を解析する。

3) ゲノム編集技術による巨大胚コムギの作出（農研機構作物研究部門、東京農業大学）

応募者らは、イネ巨大胚の原因遺伝子である *OsGE* (Giant Embryo) 遺伝子（シトクロム P450 遺伝子）のコムギの同祖遺伝子として、75%以上の高い相同性を持ち、2A、2B、2D 染色体上に座乗する 3 つの

*TaGE* 候補遺伝子を見出した。これらの3つの遺伝子に共通する配列を利用して、RNA干渉およびゲノム編集用のバイナリーベクターを構築する。このバイナリーベクターを用いて、世界に先駆けて穂発芽耐性を付与したゲノム編集コムギの作出に成功した農研機構作物研究部門において (Abe et al. 2019)、ゲノム編集による巨大胚コムギの作出を試みる。ゲノム編集により巨大胚コムギを作出できれば、世界初のゲノム編集による穂発芽耐性コムギと同様に、早期に野外栽培試験のステージに進むことが期待される。

4) コムギ胚芽由来有効成分の調査および研究成果の社会実装 (東京農業大学・農研機構作物研究部門、株式会社ニッポン中央研究所協力)

本研究プロジェクトに強い興味を示しており、東京農業大学と同じ厚木市内にある株式会社ニッポン中央研究所の全面的な協力を得て、胚芽由来の有効成分の含有量等の調査を行いその特性や付加価値を解明する。本研究から得られる最適な巨大胚の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、コムギのアミロース合成遺伝子の変異を導入して、従来よりも柔らかく日持ちの長いパンを製造することが可能な品種「にしのやわら」(株式会社ニッポンによる契約栽培を実施)が育成されたように、既存の普及品種を短期間に改良して付加価値を高める迅速な実用品種の育成が可能になる。

## 7. 研究成果

### 1) 巨大胚コムギを選抜するためのDNAマーカー開発および巨大胚突然変異候補系統の選抜

国内および海外のコムギ遺伝資源を解析対象とした。国内の遺伝資源は、日本のコムギコアコレクション (以下JWCとする) 96品種を、つくば市の農研機構作物研究部門にて栽培した収穫物を用いた。また、海外の遺伝資源については、農業生物資源ジーンバンクより提供された千粒重の特性評価が「極大」以上で選抜した国内外の138品種 (以下大粒遺伝資源とする) を東京農業大学厚木キャンパスで栽培した収穫物を用いた。現在の国産小麦の主力品種「きたほなみ」の突然変異体4620系統の中から2022年に選抜した巨大胚候補系統の「E15-0149」、「E15-0198」は、つくば市の農研機構作物研究部門にて栽培した収穫物を用いた。すべての収穫物は1.8mmの縦目篩 (ふるい) で精選した後、無作為に10粒選抜した。胚芽サイズの測定は、子実の胚が上を向くように油粘土に固定し、フラットヘッドスキャナを用いてB4サイズ (257×364mm)、1200dpiで撮影した。スキャナで取得した画像を画像処理ソフト「ImageJ」を用いて胚芽の面積を測定した。面積の測定は、子実画像のうち胚芽の範囲をマニュアルで指定するFreehand Sections機能を用いてコムギ胚芽と子実の境界線を指定し、Measure機能で算出した。目視による胚芽部分を「胚芽面積」とし、「胚芽面積」を千粒重で除して100倍した数値を「胚芽指数」とした。

測定した材料の中では、大粒遺伝資源の「VUKA」(ドイツ)と「TURKEY-43」が比較的大きい胚芽面積と胚芽指数を示した (図1、2、3)。これらのサンプルは厚木市で栽培しているため、ドイツ由来で極晩生の「VUKA」の子実は充実不良のしわ粒となり相対的に胚芽指数が増加していたが、トルコ由来の「TURKEY-43」は十分に充実しており、巨大胚遺伝資源として有望であると考えられた。また、「きたほなみ」の突然変異体の「E15-0149」、「E15-0198」について胚芽関連形質を調査した結果、「E15-0198」は親品種の「きたほなみ」と比較して、胚が面積が約20%増加していることが確認された (図4)。

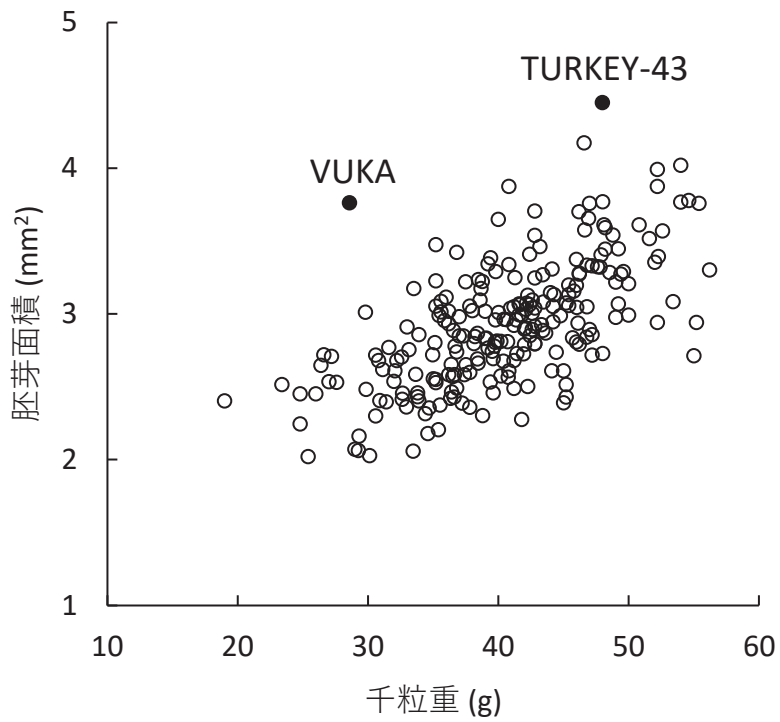


図 1. JWC および大粒遺伝資源の千粒重と胚芽面積の関係

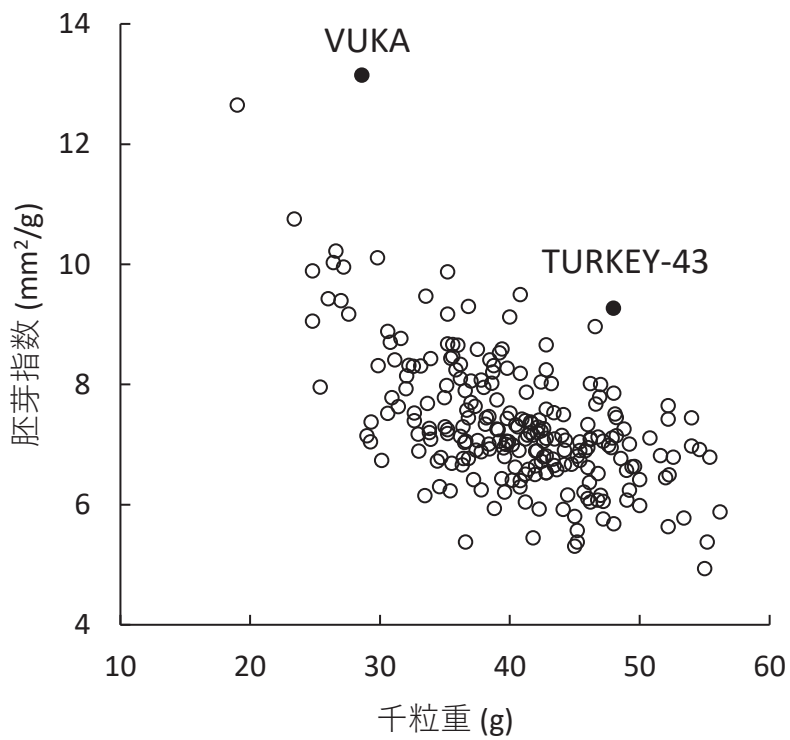


図 2. JWC および大粒遺伝資源の千粒重と胚芽指数の関係





	千粒重 (g)	胚芽面積 (mm)	胚芽指数 (mm <sup>2</sup> /g)
 VUKA (ドイツ)	28.6	3.76	13.15
 TURKEY-43 (トルコ)	48.0	4.45	9.27

図3. 比較的大きい胚芽面積および胚芽指数を示した品種「VUKA」と「TURKEY-43」の子実外観




	千粒重 (g)	胚芽面積 (mm)	胚芽指数 (mm <sup>2</sup> /g)
 突然変異体 E15-0149	44.8 +8.2%	2.39 +5.8%	5.33 -2.2%
 きたほなみ	41.4	2.26	5.45
 突然変異体 E15-0198	39.8 -3.9%	2.69 +19.0%	6.76 +24.0%

図4. 2022年につくば市で増殖した「きたほなみ」の突然変異体の子実外観と胚芽関連形質

日本のコムギコアコレクションの胚芽面積および胚芽指数について実施したゲノムワイド関連解析から得られたコムギ1B染色体、3B染色体、7A染色体上の4種類のDNAマーカー (Chr1B\_344226615、Chr1B\_346222786、Chr7A\_163798400、Chr3B\_534673841) のKASP (Kompetitive Allele Specific PCR) マーカーを作成し、リアルタイムPCR法でジェノタイピングを行った。DNAマーカーの遺伝子型は、FAM、HEX及びCOMの3種類のプライマーを用いたKASP解析により決定した (図5)。

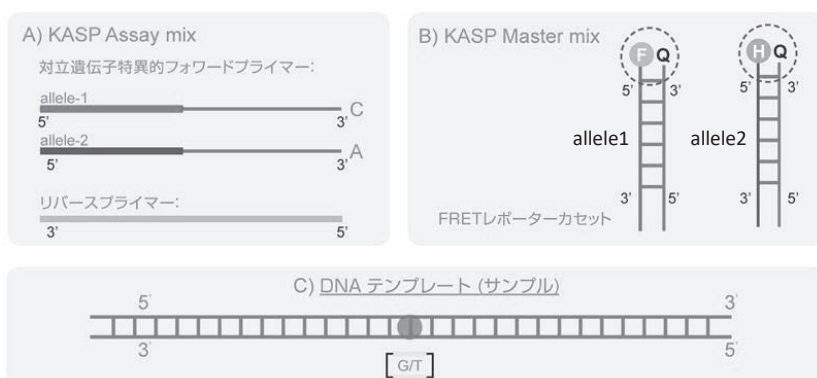


図 5. KASP 解析に用いる対立遺伝子特異的プライマーと 2 種類の蛍光で標識された KASP Master Mix

供試した JWC および大粒遺伝資源の DNA を抽出して KASP 解析を行った結果、1B 染色体上のマーカーChr1B\_344226615 は、JWC では 21 品種、大粒遺伝資源では 84 系統で胚芽指数が増加する多型が検出された (図 6)。収穫物の胚芽面積とマーカーの多型を比較したところ、JWC では胚芽指数が増加する多型が検出された品種において胚芽面積及び胚芽指数が有意に増加していた (表 1)。この多型による千粒重の有意な変化は見られなかったことから、1B 染色体上のマーカーChr1B\_344226615 は、コムギの粒重に関わらず胚芽面積を増加させていた。一方、大粒遺伝資源では本マーカーによる胚芽面積及び胚芽指数の形質データの有意な増加を確認することができなかった (表 1)。

3B 染色体上のマーカーChr3B\_534673841 は、JWC では 24 品種、大粒遺伝資源では 51 系統で胚芽指数が増加する多型が検出された (図 7)。同様に収穫物の胚芽面積とマーカーの多型を比較した結果、大粒遺伝資源では胚芽指数が増加する多型が検出された品種において、胚芽面積および千粒重の有意な増加が認められた (表 2)。一方、1B 染色体上のマーカーChr1B\_346222786、7A 染色体上のマーカーChr7A\_163798400 については、JWC および大粒遺伝資源ともにマーカー多型と胚芽指数等の有意な関係を確認することはできなかった。

JWC で胚芽指数の有意な増加が見られたマーカーChr1B\_344226615 の胚芽増加型の多型を持つ品種の地域分布は、北海道 13 品種、新潟県 2 品種、群馬県 2 品種、その他 4 品種で、北海道の品種が半分以上を占めた。大粒遺伝資源では、日本 8 品種 (岩手県 6 品種)、中国 8 品種、台湾 5 品種、ソビエト 7 品種、ブルガリア 6 品種、旧ユーゴスラビア 7 品種、トルコ 4 品種、インド 6 品種、メキシコ 6 品種、米国 4 品種、ネパール 4 品種、その他 19 品種であった。

一方、大粒遺伝資源で胚芽面積および千粒重の有意な増加が見られたマーカーChr3B\_534673841 の胚芽増加型の多型を持つ品種の地域分布は、JWC は北海道 12 品種、岩手県 6 品種、新潟県 2 品種、その他 4 品種で、Chr1B\_344226615 と同様に北海道の品種が多く見られた。大粒遺伝資源は日本 (岩手県のさび系) 6 品種、中国 5 品種、韓国 2 品種、旧ユーゴスラビア 3 品種、パキスタン 4 品種、トルコ 4 品種、インド 5 品種、メキシコ 7 品種、ネパール 4 品種、イタリア 3 品種、その他 8 品種であった。

JWC と大粒遺伝資源の合計 234 品種について、1B 染色体上のマーカーChr1B\_344226615 および 3B 染色体上のマーカーChr3B\_534673841 の 2 つのマーカーの多型の組み合わせにより、4 つのグループ (1B+3B 多型あり 52 品種、1B のみ多型あり 53 品種、3B のみ多型あり 23 品種、両方多型なし 106 品種) に分類して、千粒重、胚芽面積、胚芽指数について、それぞれ多重比較を行った。その結果、1B+3B 多型ありのグループ 1 は、両方多型なしのグループ 4 と比べて有意に胚芽面積が増加していた (表 3)。

以上の結果より、本研究で開発したコムギの胚芽サイズに関する 2 種類の DNA マーカー (Chr1B\_344226615、Chr3B\_534673841) の多型を持つ品種は、JWC および大粒遺伝資源のそれぞれに

において、胚芽サイズの増加が認められた。しかし、それぞれのマーカーは、JWC では胚芽面積の増加に対して、大粒遺伝資源では胚芽面積と千粒重に対して効果が認められたことから、それぞれ異なる遺伝的な効果を持つと考えられた。これらの効果について、ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) で収集されている国内外の品種や、JWC をさらに拡張した数百の品種材料を用いて、引き続き胚芽サイズと DNA マーカーの解析を行っている。

## 1B染色体マーカーが胚芽増加の多型を示す品種

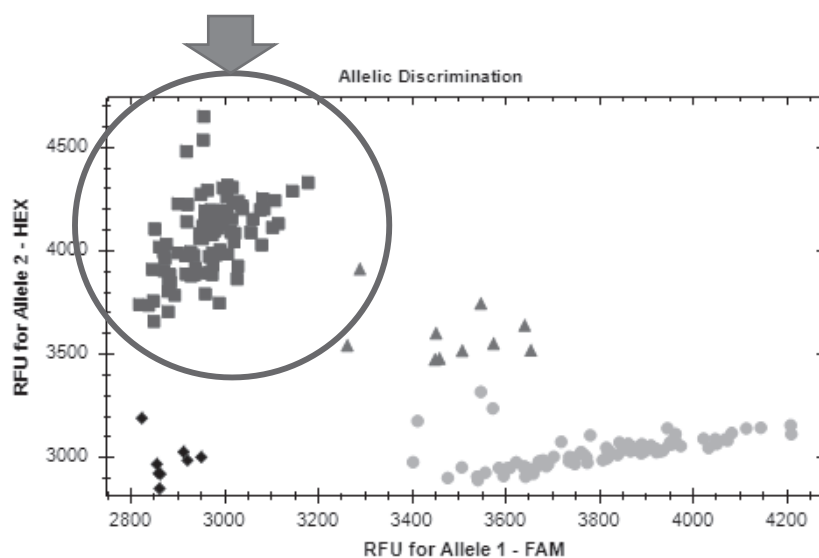


図 6. Chr1B\_344226615 マーカーの KASP 解析結果

## 3B染色体マーカーが胚芽増加の多型を示す品種

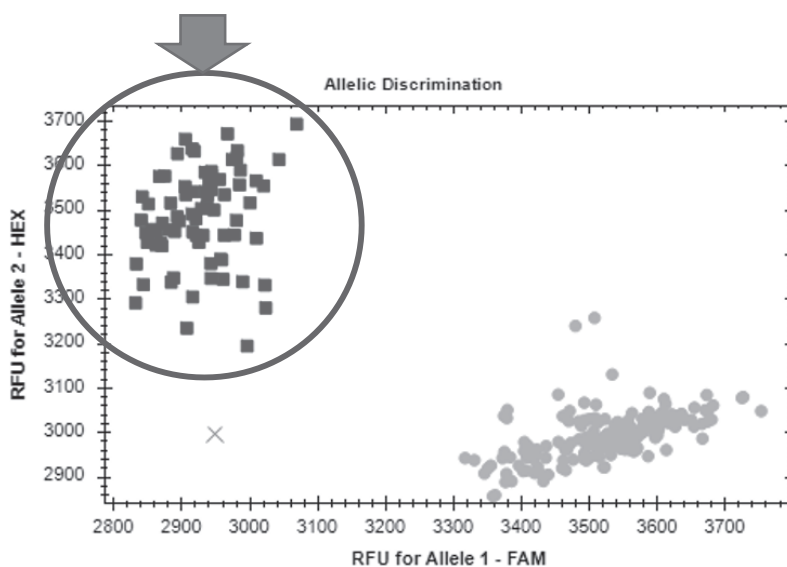


図 7. Chr3B\_534673841 マーカーの KASP 解析結果

表 1. コムギ 1B 染色体上の Chr1B\_344226615 のマーカー多型と胚芽関連形質の関係

解析材料	多型	品種数	千粒重の平均(g)		胚芽面積の平均(mm <sup>2</sup> )		胚芽指数の平均(mm <sup>2</sup> /g)	
JWC	増加型	21	40.78	n.s.	3.19	**	7.88	**
	その他	75	38.53		2.75		7.19	
大粒遺伝資源	増加型	84	40.84	n.s.	2.97	n.s.	7.42	n.s.
	その他	54	42.25		3.03		7.27	
全材料	増加型	105	40.83	n.s.	3.01	**	7.51	n.s.
	その他	129	40.08		2.87		7.22	

\*を p<0.01、n.s.有意差なし

表 2. コムギ 3B 染色体上の Chr3B\_534673841 マーカー多型と胚芽関連形質の関係

解析材料	多型	品種数	千粒重の平均(g)		胚芽面積の平均(mm <sup>2</sup> )		胚芽指数の平均(mm <sup>2</sup> /g)	
JWC	増加型	24	40.30	n.s.	3.04	**	7.58	n.s.
	その他	72	38.59		2.78		7.26	
大粒遺伝資源	増加型	51	42.92	n.s.	3.10	*	7.31	n.s.
	その他	87	40.49		2.92		7.40	
全材料	増加型	75	42.08	*	3.08	**	7.40	n.s.
	その他	159	39.63		2.86		7.33	

\*を p<0.01、n.s.有意差なし

表 3. コムギ 1B 染色体および 3B 染色体のマーカー多型の組合せと胚芽関連形質の関係

解析材料	1Bの多型	3Bの多型	品種数	千粒重の平均(g)		胚芽面積の平均(mm <sup>2</sup> )		胚芽指数の平均(mm <sup>2</sup> /g)	
グループ1	増加型	増加型	52	41.90	a	3.13	a	7.53	a
グループ2	増加型	その他	53	39.77	a	2.90	ab	7.50	a
グループ3	その他	増加型	23	42.49	a	2.98	ab	7.09	a
グループ4	その他	その他	106	39.56	a	2.84	b	7.25	a

同一のアルファベット間には有意差がないことを示す (P<0.05)

## 2) コムギの胚芽サイズと栄養成分の関係

コムギの胚芽は、特にビタミンE（トコフェロール、トコトリエノール）を豊富に含むことが知られている。したがって、巨大胚コムギではビタミンEが増加し、全粒粉パンの機能性が画期的に高まることが期待される。そこで、コムギの胚芽サイズとビタミンE含量および全粒粉パンの嗜好性の関係について解析を行った。実験材料は、東京農業大学厚木キャンパスの圃場で栽培したコムギ10品種（2022年厚木産）の全粒粉とした。また、北米産輸入コムギ銘柄「1CW」を対照区とした。コムギ子実のタンパク含量の測定は近赤外分析装置 Inframatic 9500 Plus（Perten Instrument社）のプログラム「小麦」を使用して2回測定し、その平均をサンプルのタンパク質含有率とした。タンパク質含有率はタンパク固定換算=13.5%の測定値を用いた。ビタミンEの測定法は、河野ら（2021）を一部改変して行った。HPLCの構成は、カラム：Cosmosil 5FPF（Φ4.6×250mm、ナカライ）、移動相：メタノール：水（9：1）、流速：1.0ml/min、カラム恒温槽：40℃、検出蛍光波長：325nmとした。製パン試験は日本イースト工業会（1996）の食パン評価法に準じて行い、生地調製（全粒粉30g+小麦粉70g=100g）、一次発酵（60分）、ベンチタイム（20分）、成型、スチーム発酵（35℃、50分）、焼成（180℃、35分）の順に行った。官能評価は焼成24時間後に評価した。評価方法については味、香り（強さと嗜好の2項目）、物性、総合評価の計5項目をパネラーが評価し、対照区1CWを0点として±2点の範囲で比較した。また、株式会社ニッポン中央研究所において、同一の配合のサンプルの全粒粉パンの焼成および評価を行った。

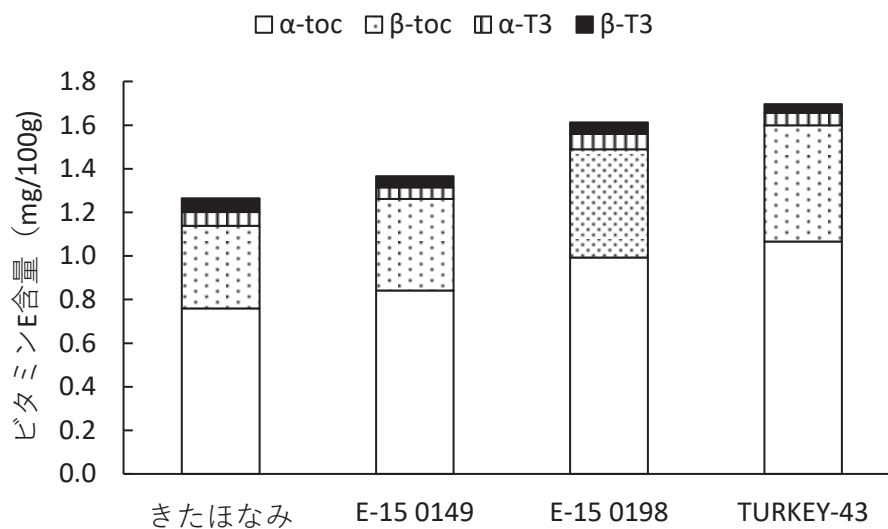


図8. 「きたほなみ」およびその巨大胚変異体と巨大胚遺伝資源「TURKEY-43」のビタミンE含量

「きたほなみ」およびその巨大胚変異体系統と、今回解析した234品種の中で最も大きい胚芽面積を示したトルコの品種「TURKEY-43」のビタミン含量を測定した。その結果、2系統の「きたほなみ」の変異体は、胚芽面積または胚芽指数の増加とほぼ同じ割合でビタミンE含量が増加しており、「E-15 0198」は、巨大胚遺伝資源の「TURKEY-43」に匹敵するビタミンE含量を示すことが明らかになった（図8）。

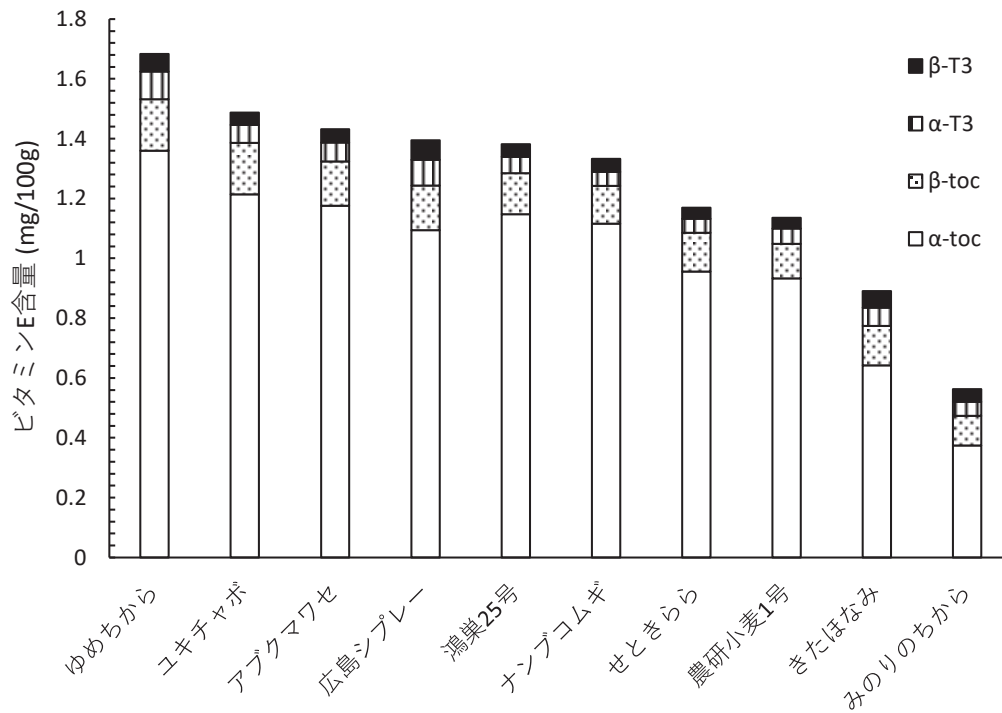


図9. 全粒粉パン用のコムギ材料の成分別のビタミンE含量

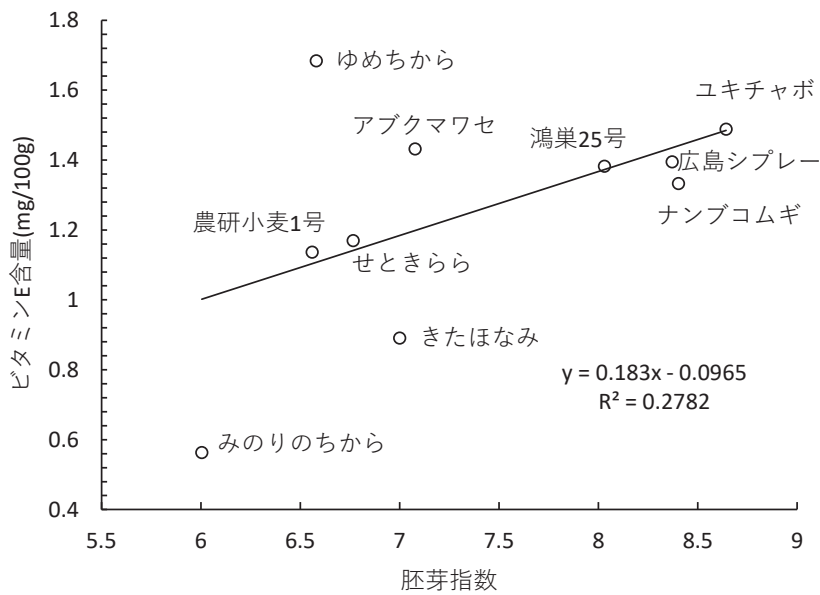


図10. 全粒粉パン用のコムギ材料の胚芽指数とビタミンE含量の関係

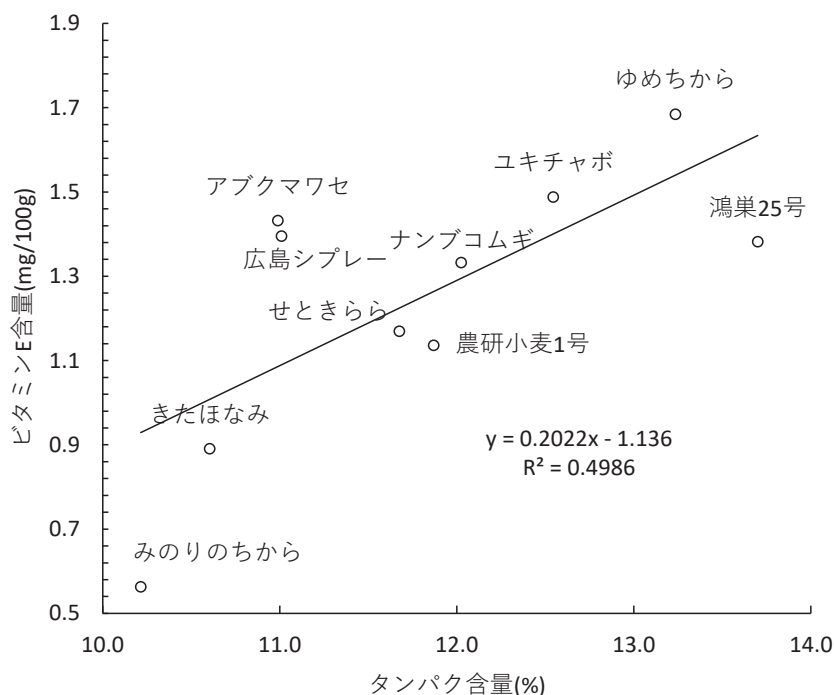


図 11. 全粒粉パン用の小麦材料のタンパク含量とビタミン E 含量の関係

全てのサンプルから  $\alpha$  型、 $\beta$  型のトコフェロールおよびトコトリエノールがそれぞれ検出され、トコフェロール含量は、 $\alpha$ 、 $\beta$  ともに「ゆめちから」が最も高く、「みのりのちから」が最も低かった。トコトリエノール含量が最も高いのは、 $\alpha$  型は「ゆめちから」、 $\beta$  型は「広島シプレー」で、最も低いのは、 $\alpha$  型は「みのりのちから」、 $\beta$  型は「農研小麦 1 号」であった (図 9)。胚芽指数とビタミン E 含量の間には弱い正の相関が認められ ( $P = 0.12$ ) (図 10)、ビタミン E 含量とタンパク含量の間には、比較的強い正の相関関係が見られた ( $P = 0.02$ ) (図 11)。タンパク含量、ビタミン E 含量ともに「ゆめちから」が最も高く、「みのりのちから」が最も低かった。「ゆめちから」のビタミン E 含量は、最も低い「みのりのちから」の  $0.56\text{mg}/100\text{g}$  に対して約 3 倍の  $1.68\text{mg}/100\text{g}$  で、かなり大きな差異を示した。これに対して両品種のタンパク含量は「みのりのちから」 $10.61\%$  に対して「ゆめちから」 $13.24\%$ 、以下は同じ順番で、胚芽面積は  $1.92\text{mm}^2$  に対し  $2.24\text{mm}^2$ 、胚芽指数は  $6.01$  に対し  $6.58$  であった。全粒粉パンの官能試験の結果、味に関しては、「鴻巣 25 号」、「ゆめちから」、「広島シプレー」、「きたほなみ」、「農研小麦 1 号」は甘いと評価された。香りに関しては、「鴻巣 25 号」、「ユキチャボ」、「きたほなみ」、「せときらら」、は香ばしいという評価が得られ、「広島シプレー」、「アブクマワセ」、「農研小麦 1 号」、は酸っぱい、ふすま臭のようなマイナスの評価であった。食感に関しては、「鴻巣 25 号」、「ユキチャボ」、「ゆめちから」、「せときらら」、「農研小麦 1 号」は口溶けが良いという評価が得られ、「広島シプレー」、「みのりのちから」、はパサパサであると評価された。総合評価として、「農研小麦 1 号」が対照区を下回る結果となり、最も高い評価を得た品種は「ゆめちから」であった。ニッポン中央研究所による官能試験の結果は、味に関しては「広島シプレー」がやや濃く、「みのりのちから」がやや淡泊、「ゆめちから」は他品種と若干異なる味という評価が得られたが、香りは 10 品種とも対照区と同等の評価であった。また、食感に関しては「ユキチャボ」、「広島シプレー」が若干ドライ、「ユキチャボ」、「きたほなみ」がソフトであるという評価であった (表 4)。

表 4. ニッポン中央研究所による全粒粉パンの官能試験結果

2022.12.20実施




ストリート食パン試験 #	全粒粉30%+強力小麦粉70%					全粒粉15%+強力小麦粉85%							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
試料名	ナンブコムギ(東北産研)	浦東25号	ユキチャボ	広島シプレー	アブクマワセ	ゆめちから	みのりのちから	きたほなみ	1cw	きまほなみ1-6(変異処理元品種)	E15-0149(巨大胚候補変異種)	E15-0198(巨大胚候補変異種)	
捏上(温度℃)	25.5	25.5	25.2	25.2	25.8	26.0	25.8	25.6	25.3	25.5	25.5	25.5	
生地性(捏上)	ややソフト	ややソフト	ややソフト	ややソフト	ややソフト	ややソフト	ややソフト	ややソフト	ややソフト	なめらかソフト	なめらかソフト	なめらかソフト	
生地性(パンチ)	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	非常にソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	
生地性(分割)	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	
生地性(成形)	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	
生地性(成形)	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	ソフト	
ホイロ時間(分)	45	44	45	44	44	44	47	50	47	46	48	48	
ワンローフ(個別)	重量(g) 384.0 容積(cc) 1779 比容積 4.63	重量(g) 388.0 容積(cc) 1740 比容積 4.48	重量(g) 387.0 容積(cc) 1730 比容積 4.47	重量(g) 388.0 容積(cc) 1799 比容積 4.65	重量(g) 390.0 容積(cc) 1722 比容積 4.47	重量(g) 390.0 容積(cc) 1772 比容積 4.56	重量(g) 390.0 容積(cc) 1684 比容積 4.32	重量(g) 387.0 容積(cc) 1809 比容積 4.67	重量(g) 387.0 容積(cc) 1866 比容積 4.87	重量(g) 385.0 容積(cc) 1912 比容積 5.01	重量(g) 384.0 容積(cc) 1963 比容積 5.10	重量(g) 385.0 容積(cc) 1932 比容積 5.03	重量(g) 382.0 容積(cc) 1978 比容積 5.14
ワンローフ(平均)	重量(g) 385 容積(cc) 1778 比容積 4.62	重量(g) 386 容積(cc) 1752 比容積 4.54	重量(g) 388 容積(cc) 1765 比容積 4.55	重量(g) 387 容積(cc) 1797 比容積 4.64	重量(g) 388 容積(cc) 1714 比容積 4.42	重量(g) 390 容積(cc) 1759 比容積 4.51	重量(g) 389 容積(cc) 1671 比容積 4.30	重量(g) 388 容積(cc) 1781 比容積 4.59	重量(g) 384 容積(cc) 1843 比容積 4.80	重量(g) 384 容積(cc) 1938 比容積 5.05	重量(g) 385 容積(cc) 1955 比容積 5.08	重量(g) 384 容積(cc) 1959 比容積 5.11	
外観			焼き色やや濃い			焼き色やや明るい		焼き色若干明るい					
内相	若干白い				やや白い				コントロール				
食感(物性)			若干ソフト 若干ドライ	若干ドライ				ややソフト	コントロール(口溶け良い)	コントロール	コントロールと同等 ~味がやや淡泊		
食感(味)				やや濃い		若干他と異なる味	やや淡泊		コントロール	コントロール		⑩より味がある	
食感(香り)							コントロール(香ばしい)			コントロール			





### 3) ゲノム編集による巨大胚コムギの作出

イネ巨大胚の原因遺伝子である *OsGE* (Giant Embryo) 遺伝子 (シトクロム P450 遺伝子) のコムギの同祖遺伝子として、79%以上の高い相同性を持ち、コムギ染色体の第2同祖群の2A、2B、2D染色体上にそれぞれ座乗する3つの *TaGE* 候補遺伝子 (シトクロム P450 遺伝子) を見出した (図1)。逆遺伝学的アプローチに基づき、これらの3つの遺伝子をゲノム編集により機能を欠失させることにより、通常の突然変異処理で得ることがほぼ不可能な三重突然変異体の作出に向けて以下の実験を行った。

Query	Databanks	Subject	Score	BEST HSP					
				Identities (Query length)	Percentage	Expect	Start	End	
OsGE	IWGSC RefSeq v2.1 chromosome 2A only	Chr2A 	836	752/940 (1578)	80	0.0	138824926	138824007	
OsGE	IWGSC RefSeq v2.1 chromosome 2D only	Chr2D 	805	745/940 (1578)	79	0.0	129584820	129583901	
OsGE	IWGSC RefSeq v2.1 chromosome 2B only	Chr2B 	791	736/933 (1578)	79	0.0	189188076	189187163	

```

OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
ggcaagttaactgggcccgaaccactgcoattgctcagggtggctgaocctccaggcattc 780
AGGAAATGGCAGGTGATCTGCCAGTTGAACITGCCGAGG----- 254
AGGAAATGGCAGGTGATCTGCCAGTTGAACITGCCGAGG----- 254
AGGAAATGGCAGGTGATCTGCCAGTTGAACITGCCGAGG----- 254
* * * * *
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
cgcgcggctgcaacaggctagtccagaagtgagggttctgtcggaagaatcacaag 840
-----AGGTCGTACCCCTCGTTTACCATCTCCTCCAC 286
-----AGGTCGTACCCCTCGTTTACCATCTCCTCCAC 286
-----AGGTCGTACCCCTCGTTTACCATCTCCTCCAC 286
*****
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
gagcacaaggcgaagcgagctgcccggagcgtgcogtgcgacggcgtcttggcgga- 899
GAC-----GACTCCTTCTTGCTTGT 307
GAG-----GGCGCTTCTTGCTTGT 307
GAG-----GGCACCTTCTTGCTTGT 307
** * * * *
--ctctgctgactgctctctgactccaggagagagagaatgtcagactccgaatg 957
GAAGTCATCGTAGCGCTTCCGAAAGACGACGGCCATGACGTGGTTTAGGGACGCCGCTG 367
GAAGTCATCGTAGCGCTTCCGAAAGACGACGGCCATGACGTGGTTTAGGGACGCCGCTG 367
GAAGTCATCGTAGCGCTTCCGAAAGACGACGGCCATGACGTGGTTTAGGGACGCCGCTG 367
* * * * *
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
atcgtgttctttggagatgatcttttagaggacggacaggtggcgatcttgatggag 1017
CA-----GGAACCGCCGAGGGGCGACTTCGCCGTGGCGGCCATGAGGGAG 413
CA-----GGAACCGCCGAGGGGCGACTTCGCCGTGGCGGCCATGAGGGAG 413
CA-----GGAACCGCCGAGGGGCGACTTCGCCGTGGCGGCCATGAGGGAG 413
* * * * *
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
tgggtgatggcaggatggtgatgcaccggagatccaggcgaagcgcaggcggagg-- 1075
GCGACGTCGCCGAGCATGCGCGTCCCAATAGAGGAGCGATGGGTGCCGAGGCCGCCAG 473
GCGACGTCGCCGAGCATGCGCGTCCCAATAGAGGAGCGATGGGTGCCGAGGCCGCCAG 473
GCGACGTCGCCGAGCATGCGCGTCCCAATAGAGGAGCGATGGGTGCCGAGGCCGCCAG 473
* * * * *
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
tggacgcccgcgtgggggagccgcccggcggcgtgcgacggcgcgag-----tgg 1126
CGGCGGGGCGAAGAGGTTGCGCCCGCGGAGAGCGCGGAGGGCAGGCCAGTGAAGCTG 533
CGGCGGGGCGAAGAGGTTGCGCCCGCGGAGAGCGCGGAGGGCAGGCCAGTGAAGCTG 533
CGGCGGGGCGAAGAGGTTGCGCCCGCGGAGAGCGCGGAGGGCAGGCCAGTGAAGCTG 533
* * * * *
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
cgagcctccctacatocagtcacatgtaagagagcgtgcgcatgacccgcccggcc 1186
CCCGACGGGGCGAAGCCCATTCGCGCGTGAAGAGGAGTGG-----CGCGCC 581
CCCGACGGGGCGAAGCCCATTCGCGCGTGAAGAGGAGTGG-----CGCGCC 581
CCCGACGGGGCGAAGCCCATTCGCGCGTGAAGAGGAGTGG-----CGCGCC 581
* * * * *
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
cgtctctgtgtggcgcg-----cctgcgctgcaagcagcgcgctggtggccaagcc 1242
CGCTCCTTACAGGGCGGTGCGCGAACGCCGG-GTTACGAGTATCTCACGCGCGTATC 640
CGCTCCTTACAGGGCGGTGCGCGAACGCCGG-GTTACGAGTATCTCACGCGCGTATC 640
CGCTCCTTACAGGGCGGTGCGCGAACGCCGG-GTTACGAGTATCTCACGCGCGTATC 640
* * * * *
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
-gtcccgcgggagcagcggcgatggtgaacatgtggcgatc-----gccacgagcgcg 1298
TTGCCGCTCGACACGACCCCGGGTGAAGCGGAGGAGACATCAATGCCCGCC 700
TTGCCGCTCGACACGACCCCGGGTGAAGCGGAGGAGACATCAATGCCCGCC 700
TTGCCGCTCGACACGACCCCGGGTGAAGCGGAGGAGACATCAATGCCCGCC 700
* * * * *
OsGE
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2B | Chr2B:189187163-189188076
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2A | Chr2A:138824007-138824926
gnl | IWGSC_ref_V2.1_chr2D | Chr2D:129583901-129584820
cgttggcggagcggatgcttccgcccggagcgttctcggggggaggagcgtgg 1358
GCCATGGACAGCGGGGACGCGCCGCATGACGCGGTGCGCCACGGGGCTGGAGAG-- 757
GCCATGGACAGCGGGGACGCGCCGCATGACGCGGTGCGCCACGGGGCTGGAGAG-- 757
GCCATGGACAGCGGGGACGCGCCGCATGACGCGGTGCGCCACGGGGCTGGAGAG-- 757
* * * * *

```

図 12. イネ巨大胚原因遺伝子 *OsGE* 配列によるコムギゲノムの BLAST 検索と相同性解析結果

イネ *OsGE* 遺伝子と高い相同性を示す 3 つの *TaGE* 候補遺伝子配列の中から、相同性および特異性が高い、複数のアミノ酸のコード領域を編集するように設計したバイナリーベクターを農研機構作物研究部門において構築した (図 11)。本ベクターを導入したアグロバクテリウムを、コムギ品種「Fielder」の未熟胚に感染させ、現在、3 つの *TaGE* 遺伝子がすべて編集された可能性が高い三重変異候補系統を養成中である。今後、*TaGE* 遺伝子の編集が確認された系統から得られた子実およびその後代系統の子実について、胚芽サイズおよび栄養成分の評価を行う予定である。

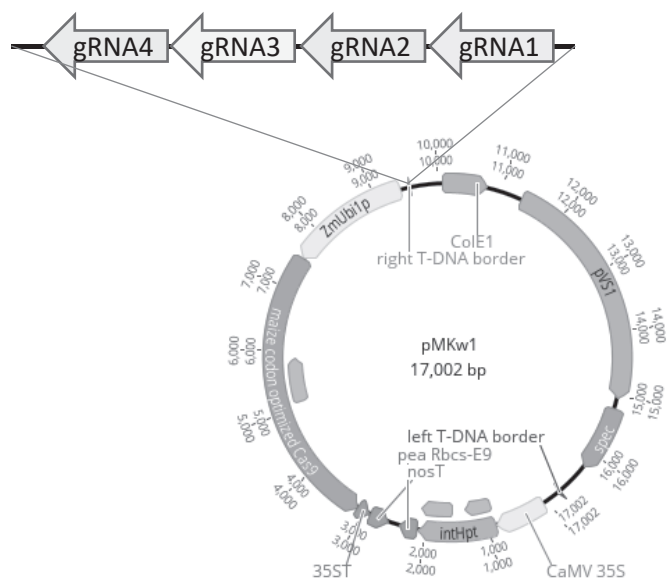


図 13. コムギの *TaGE* 遺伝子編集用のバイナリーベクター

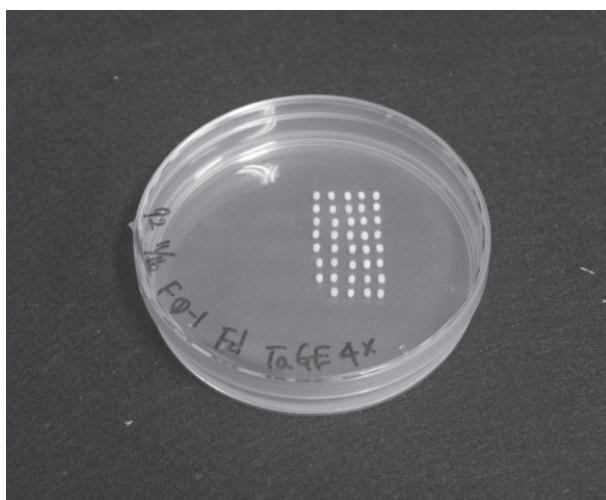


図 14. コムギの *TaGE* 遺伝子編集用のベクターを導入したコムギの未熟胚

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究の結果、実用性が非常に高いと考えられる国産小麦の主力品種「きたほなみ」の巨大胚変異体の胚芽およびビタミン E の増加量を明らかにした。この変異体「E15-0198」は、調査したコムギの遺伝資源の中で最も大きい胚芽を示したトルコの品種「TURKEY-43」とほぼ同等のビタミン E 含量を示したことから、栄養分を強化した全粒粉パンや栄養補助食品の原料として有望であるといえる。また、既に最も生産量の多い国産パン用コムギ品種の「ゆめちから」のビタミン E 含量が優れていることを明らか

にしたことから、今後、全粒粉やふすまの有効活用が期待される。さらに、現在養成中であるが、巨大胚原因遺伝子を編集したゲノム編集コムギが育成され、その結果が期待される。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究で得られた「きたほなみ」の巨大胚変異系統における胚芽やビタミンEの増加量は20%程度であり、本研究の遂行に多大な協力を頂いたニッポン中央研究所からは、さらに大幅に胚芽とビタミンEが増加した系統の開発が期待されている。このため、現在の「きたほなみ」巨大胚変異体に、さらに突然変異処理を施すことや、現在も継続中の新たな巨大胚遺伝資源の探索が必要である。また、ゲノム編集コムギにおいて期待されている、巨大胚米並みの巨大胚コムギが得られれば、社会の受容に向けて、例えば、もちコムギの作出のように、遺伝子組換えを経ない三重変異体の作出が必要である。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 戸梶瑛滋・小林史典・水野信之・岡田修平・池田八起・西尾善太 「コムギ胚芽面積の遺伝的要因の解析」第17回ムギ類研究会 ポスター発表

# 2022年度 企業とのマッチングファンド型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 福岡 孝則

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
街区スケールにおける雨水流出抑制効果を中心にしたグリーンインフラ評価手法に関する研究	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	福岡 孝則	地域環境科学部 造園科学科・准教授	研究統括、土地利用と雨水流出量分析
研究代表者 (企業)	向井 一洋	竹中工務店技術研究所 環境・社会研究部・地球環境 GI 研究主任	雨水流出モデル作成
研究分担者	國井 洋一	地域環境科学部 造園科学科・教授	グリーンインフラの測定
	金澤 弓子	地域環境科学部 造園科学科・准教授	植栽基盤の分析
	鈴木 伸治	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	土壌の雨水浸透能測定
	岡澤 宏	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	グリーンインフラの測定
	槌尾 健	竹中工務店技術研究所 環境・社会研究部・地球環境 GI 研究主任	雨水浸透データ実測、整理

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

本研究の背景として、気候変動の影響による都市部における内水氾濫の増加を上げる。特に世田谷区ではグリーンインフラ政策・計画の展開が進むが、個別のグリーンインフラ事業の整備にとどまり、面的な実装（流域スケール）での計画的な導入に関して基礎的な知見が欠落している。そこで本研究においては世田谷区内の谷沢・丸子川流域に着目し、グリーンインフラ計画を推進する上で必要なグリーンインフラ評価手法に着目する。

## 5. 研究目的

本研究はグリーンインフラを活かした街づくりに資することを目的とし、以下の3点を明らかにする。  
○世田谷区内の谷沢・丸子川流域を対象とした土地被覆と雨水流出量の分析。特に玉川野毛町公園周辺の3小流域および道路空間に着目した分析を行う。

○世田谷区内谷沢・丸子川流域を対象として収集されたデータを用いた街区スケールにおける流出解析モデルの基礎的な検証(②-A) および降雨流出の影響度の解析(②-B)

○世田谷区内で応用可能なグリーンインフラの測定・検証(土壌浸透能、降雨流出の影響度の解析、レーザスキャナによる墳丘墓の現況把握、植栽基盤の分析)

## 6. 研究(実験)方法

本研究は世田谷区内の谷沢・丸子川流域を対象として実施するものである。本年度は世田谷区とも協議・調整の上、現在公園再整備が検討中である玉川野毛町公園周辺の小流域を中心とした街区を対象として設定して分析を進めた。研究は以下の3つの軸をもとに進められた。

- ① GISを用いた対象域の土地被覆と雨水流出抑制の関係性の検証(福岡)
- ② 雨水流出のモデル作成(A)(向井・樋尾)、降雨流出の影響度の解析(B)(岡澤)
- ③ 世田谷区で応用可能なグリーンインフラの測定・検証(土壌浸透能の測定、レーザスキャナによる墳丘墓の現況把握、街路樹植栽基盤の測定)(鈴木・國井・金澤)

## 7. 研究成果

※図表番号は各分担項目ごとに設定

### 土地被覆と雨水流出抑制の関係性の検証(福岡)

・研究対象の流域(谷沢・丸子川流域)

本研究の対象は世田谷区豪雨対策下水道課・みどり政策課と協議の上、世田谷区内で流域が完結し、かつ域内に多様な土地利用を含み、世田谷区豪雨対策行動計画の重点エリアとしても設定されている谷沢・丸子川流域とした。

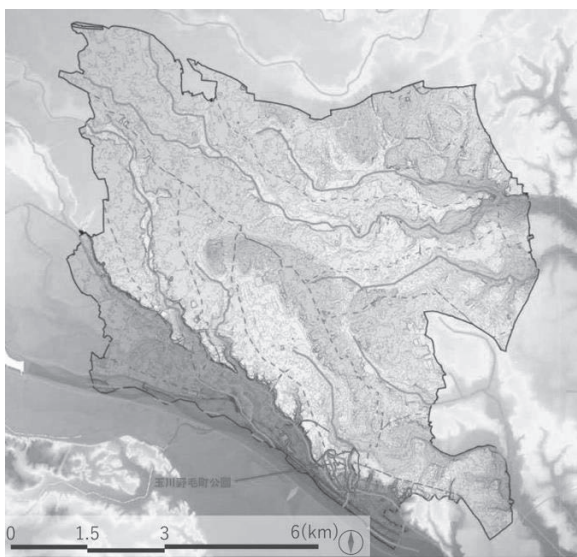


図-1 世田谷区内の地形図と谷沢・丸子川流域(赤点線)

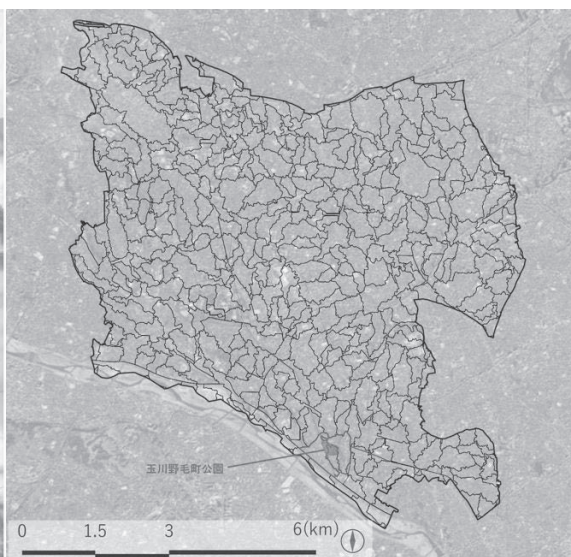


図-2 小流域の区分と対象域

本年度は、世田谷区西部の谷沢川流域内に位置する玉川野毛町公園周辺のエリア(図-1, 2)および、

用賀3・4丁目、上用賀エリアを対象として、土地被覆と雨水流出抑制の関係性に関する検証を行った。

・玉川野毛町公園周辺エリアにおける土地被覆と雨水流出量

降雨各小流域の土地被覆分類を行ったのちに、「野川、仙川、入間川、谷沢川及び丸子川流域浸水想定区域図（想定最大規模降雨改定）」（最大雨量 153mm、総雨量 690mm）の降雨強度を基に流出係数を算出した。（図-3）①の流域は総面積が 26.150ha と三流域の中でも一番大きく、樹木の割合が 33.65%と高いが、非緑被面の割合は総面積の中で 70.88%を占める。これは流域内に戸建住宅、マンション、アパートが密集し、商業用地、公共用地を含む建築面が全体の 25.20%を占めているためである。さらに舗装面も 24.41%になることから雨水流出量も 7.111 m<sup>3</sup>/sec と三流域内で最も高い数値を示した。（表 3）①の流域内では私有地の割合が高いことから公有地への GI 導入検討に加えて、私有地への GI 導入に向けた検討を行う必要が示唆された。②の流域は総面積が 8.809ha と三流域の中で最も小さく、流出量も 1.981 m<sup>3</sup>/sec と低い数値となっている。非緑被面は 58.45%と低い数値ではないが、流域内に公園、運動場があり、樹木の割合が 25.82%、草地在 15.06%、総面積の割合では緑被面が 41.54%であり、非緑被面の戸建住宅、アパート等の小規模建築が点在していることが明らかになった。（表 4）②の流域内では玉川野毛町公園を中心とした公有地への GI 導入を検討の可能性が示唆された。

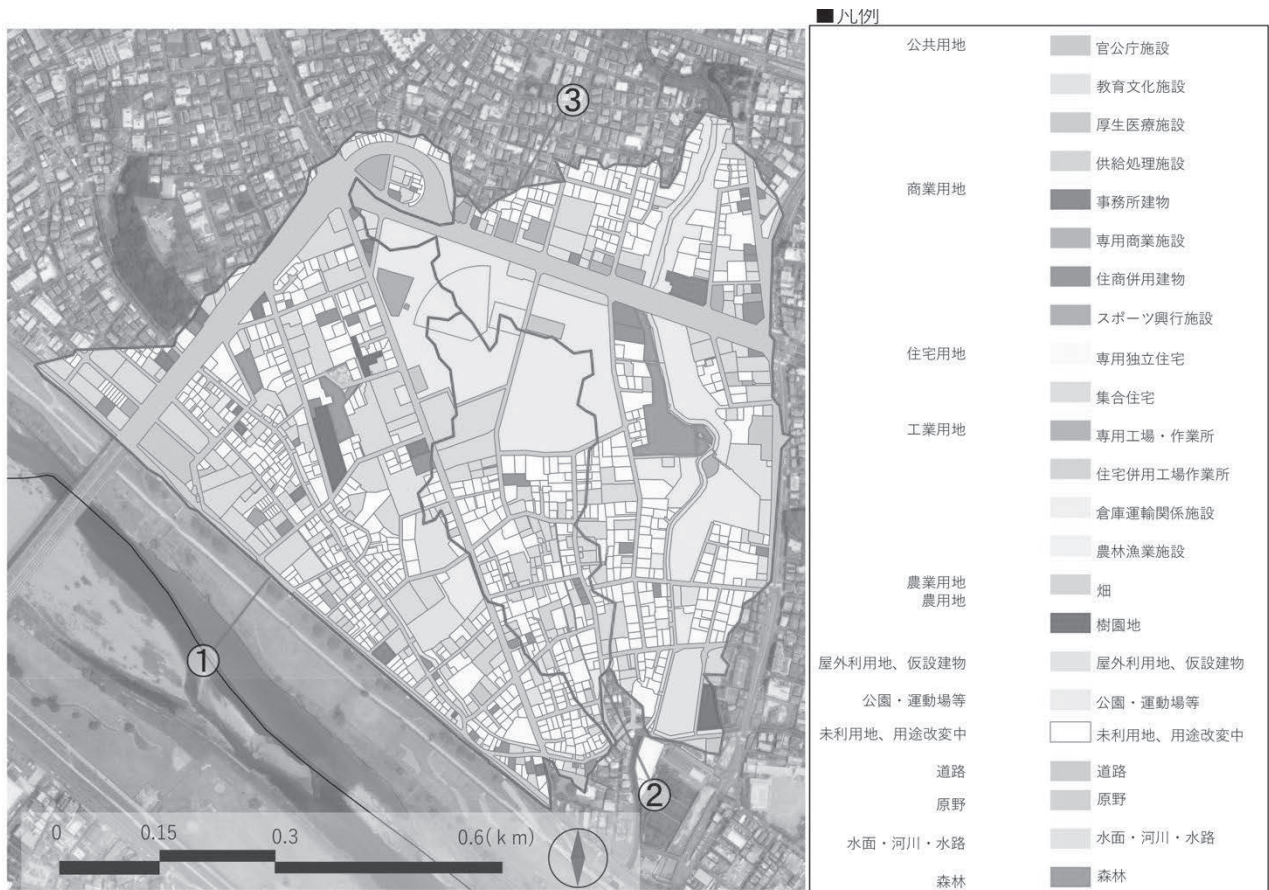


図-3 対象地区周辺の3小流域の土地利用図（世田谷区土地利用現況調査及び緑の資源調査データ（令和3年度）をもとに作成

地域	土地利用	区分	流出係数	流出係数 (%)	流出係数 (%)	流出係数 (%)	流出係数 (%)
緑地面	農地	畑	0.20	0.448	1.71	0.018	0.018
		田	1.099	6.12	0.022	0.022	
		園	0.35	0.785	3.85	0.041	0.041
		雑草	0.101	0.50	0.008	0.008	
		耕作層・仮設農地	0.85	1.143	4.37	0.413	0.413
		農道	0.90	0.006	0.01	0.001	0.001
		公共用地、商業用地、住宅用地、工業用地、倉庫	0.90	0.730	2.79	0.193	0.193
		河川内緑地帯（河川緑地帯等）	0.85	1.189	4.54	0.429	0.429
		緑地	0.80	7.476	28.89	2.880	2.880
		公園、運動場等、緑地、遊歩道	0.85	4.401	16.32	1.598	1.598
非緑地面	住宅地、商業用地、工業用地、倉庫	住宅	1.00	9.209	8.80	0.880	0.880
		商業	1.00	10.917	41.86	0.709	0.709
		倉庫	1.00	15.174	58.02	0.545	0.545
		道路	0.95	20.937	42.86	0.709	0.709
		河川内緑地帯	0.85	15.174	58.02	0.545	0.545
		河川内緑地帯	0.85	26.150	100.00	0.254	0.254
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	0.254	0.254
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	0.254	0.254
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	0.254	0.254
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	0.254	0.254

表3 ①の流域内の土地被覆分類と流出係数

地域	土地利用	区分	流出係数	流出係数 (%)	流出係数 (%)	流出係数 (%)	流出係数 (%)
緑地面	農地	畑	0.20	0.016	0.68	0.005	0.005
		田	1.230	13.98	0.078	0.078	
		園	0.15	4.518	12.29	0.288	0.288
		雑草	0.000	0.00	0.000	0.000	
		耕作層・仮設農地	0.85	0.003	0.01	0.001	0.001
		農道	0.90	0.004	0.01	0.001	0.001
		公共用地、商業用地、住宅用地、工業用地、倉庫	0.90	0.473	5.37	0.101	0.101
		河川内緑地帯（河川緑地帯等）	0.85	0.022	0.21	0.008	0.008
		緑地	0.80	7.402	78.23	0.612	0.612
		公園、運動場等、緑地、遊歩道	0.85	0.503	10.25	0.526	0.526
非緑地面	住宅地、商業用地、工業用地、倉庫	住宅	1.00	0.021	0.24	0.009	0.009
		商業	1.00	4.804	49.41	0.311	0.311
		倉庫	1.00	3.038	34.37	1.059	1.059
		道路	0.95	100.00	1.430	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430

表4 ②の流域内の土地被覆分類と流出係数

地域	土地利用	区分	流出係数	流出係数 (%)	流出係数 (%)	流出係数 (%)	流出係数 (%)
緑地面	農地	畑	0.20	0.227	0.98	0.019	0.019
		田	1.139	6.93	0.072	0.072	
		園	0.15	11.706	50.97	0.148	0.148
		雑草	0.114	0.50	0.007	0.007	
		耕作層・仮設農地	0.85	2.884	12.40	1.005	1.005
		農道	0.90	0.006	0.00	0.000	0.000
		公共用地、商業用地、住宅用地、工業用地、倉庫	0.90	0.264	2.45	0.120	0.120
		河川内緑地帯（河川緑地帯等）	0.85	0.882	2.96	0.246	0.246
		緑地	0.80	6.468	19.42	1.706	1.706
		公園、運動場等、緑地、遊歩道	0.85	3.303	17.05	1.417	1.417
非緑地面	住宅地、商業用地、工業用地、倉庫	住宅	1.00	11.166	9.72	0.970	0.970
		商業	1.00	19.248	97.88	0.847	0.847
		倉庫	1.00	9.802	42.40	4.997	4.997
		道路	0.95	100.00	1.430	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430
		河川内緑地帯	0.85	1.000	0.00	1.430	1.430

表5 ③の流域内の土地被覆分類と流出係数

・用賀3、4丁目および上用賀公園周辺エリアにおける土地被覆と雨水流出量

本年度は用賀3、4丁目・上用賀地区の中で、総面積184haの中で、142ha分の土地被覆分類を行った。その内、最大雨量153mmの降雨強度を基に流出係数と流出量を算出した。(表2)現状の雨水流出量は46.28 m³/secであることが明らかになった。区分した142haの中で、非緑被面の割合は総面積の中で83.97%を占める。これはエリア内に戸建住宅、マンション、アパートが密集し、商業用地、倉庫、公共用地を含む建築面が全体の39.65%を占めているためである。さらに舗装面と道路も35.48%になることから雨水流出量が20.43 m³/secである。道路以外の舗装面におけるGI導入の重要性が示唆された。

緑被面の割合は15.99%と低く、裸地の割合も8.84%であった。裸地は、旧国立医薬品食品衛生研究所、関東中央病院隣の未利用地等の多くの未利用地も含む。面積の広い未利用地へのGI導入に関しても一定の効果があると推察されている。区分作業の残っている41.44haは、ほぼ1ha以下の住宅地、商業用地、診療所・事務所等の用地である。民有地の割合が高いことから今後公有地へのGI導入に並行して民有地へのGI導入に向けた検討を行う必要がある。

	土地被覆	土地利用形態	流出係数	面積 (ha)	面積割合 (%)	雨水流出量 (m3/sec)
緑被面	緑地 (混合)	植栽ます	0.15	3.71	2.60%	0.24
		庭	0.15	0.71	0.50%	0.05
		屋上緑化	0.15	0.06	0.04%	0.00
		墓	0.15	0.55	0.39%	0.04
		芝地・草地	0.15	5.39	3.78%	0.34
	農地	樹園	0.20	0.51	0.36%	0.04
		畑	0.20	1.96	1.38%	0.17
		樹林	0.15	1.96	1.37%	0.12
		樹林	0.15	7.93	5.56%	0.51
		グラウンド	0.50	11.82	8.28%	2.51
非緑被面	裸地	駐車空間	0.50	0.79	0.55%	0.17
		間地	0.50	0.00	0.00%	0.00
		歩道	0.95	5.90	4.14%	2.38
	道路	車路	0.95	26.05	18.26%	10.52
		橋・高架道路	0.95	4.32	3.03%	1.75
	構造物	建築物	0.90	55.83	39.15%	21.36
		構造物	0.90	0.21	0.14%	0.08
		施設	0.90	0.52	0.36%	0.20
		間地	0.95	6.42	4.50%	2.59
		駐車ます	0.95	1.39	0.98%	0.56
	舗装	駐車車路	0.95	3.54	2.48%	1.43
		園路	0.95	1.44	1.01%	0.58
		広場	0.95	0.46	0.32%	0.19
		運動場	0.95	0.77	0.54%	0.31
児童遊園		0.95	0.31	0.21%	0.12	
斜面		斜面	0.40	0.03	0.02%	0.01
水面	水面	斜面舗装	1.00	0.01	0.01%	0.00
		水面	1.00	0.05	0.04%	0.02
		緑被面		22.81	15.99%	7.40
		非緑被面		119.77	83.97%	38.86
		水面		0.05	0.04%	0.02
		総面積		142.63	100.00%	
		雨水流出量				46.28

表2 対象域における土地被覆分類と雨水流出量

## 雨水流出モデル作成（向井・樋尾）

本年度は、世田谷区西部の谷沢川流域内に位置する玉川野毛町公園周辺のエリアを対象として、降雨流出氾濫モデルを用いた雨水流出の評価についての基礎的な検討を行った。Fig1 に、玉川野毛町公園の敷地が含まれる3つの集水域を示す。これらの集水域うち、集水域②に該当する範囲を本年度の評価対象エリアとした。水文解析に地形データには国土地理院基盤地図情報の5mメッシュのDEMデータを用いた。降雨条件には、世田谷区内において浸水面積6.7ha、被害家屋459棟の被害が発生した、昭和57年9月の台風18号による1時間降雨量を気象庁世田谷観測所におけるアメダスデータから入手し、本検討に用いることとした。降雨量パターンのグラフはFig.3に示す。

雨水流出解析には、土木研究所が公開している降雨流出氾濫解析モデルRRIを使用した。RRIにおいて、鉛直浸透流の表現に用いられるGreen Amptモデルのパラメータを土地利用の変化および道路部へのグリーンインフラ導入の有無に応じて変化させることにより、グリーンインフラ導入による浸水軽減効果の評価を試みた。本年度の福岡らによる研究成果である玉川野毛町公園周辺エリアの土地被覆分類データを基に各土地被覆分類に対して、Table1に示す浸透パラメータを設定した。グリーンインフラの導入による効果を比較するため、Case1は現状の土地利用被覆を想定した浸透条件、Case2では未利用地と道路に分類される土地利用メッシュの雨水浸透能がグリーンインフラの導入により改善される場合を想定し、浸透変化させた。各ケースにおける浸透能のパラメータをTable1に整理した。

Fig.4に対象エリアにおける最大浸水深の評価結果を示す。浸水深の変化は微細であるが、Case1と比較しCase2では最大浸水の低減および10cm以上の浸水が発生する面積の減少が確認された。当該エリアにおいては、公共空間である道路へのグリーンインフラ導入や未利用地を活かしたグリーンインフラの実装を推進することにより水害リスク低減効果が期待できることが示唆された。しかしながら、対象とする玉川野毛町公園周辺エリアは市街化が進んだエリアであり、現実に即した評価のためには下水道による雨水処理能力を加味した検討が必要である。本年度、東京都下水道局より世田谷区エリアの下水道管渠GISデータを貸与されたが、汎用のGISソフトウェアで読み込み可能なデータ形式への変換が必要であり、現在作業を進めている。次年度は、本年度で実施した基礎的な検討に加え、下水道の雨水流下能力も含めた評価の方法を検討する。また、公共空間でのグリーンインフラ導入を想定したが、民間施設や対象エリアにおいて最も主要な土地利用用途である住宅へのグリーンインフラ導入には、単体では小規模ながら面的な導入による雨水流出抑制効果が期待されるため、これらについても次年度以降の検討課題とする。





Fig.1 世田谷区玉川野毛町公園周辺の流域区分及び土地利用被覆メッシュ

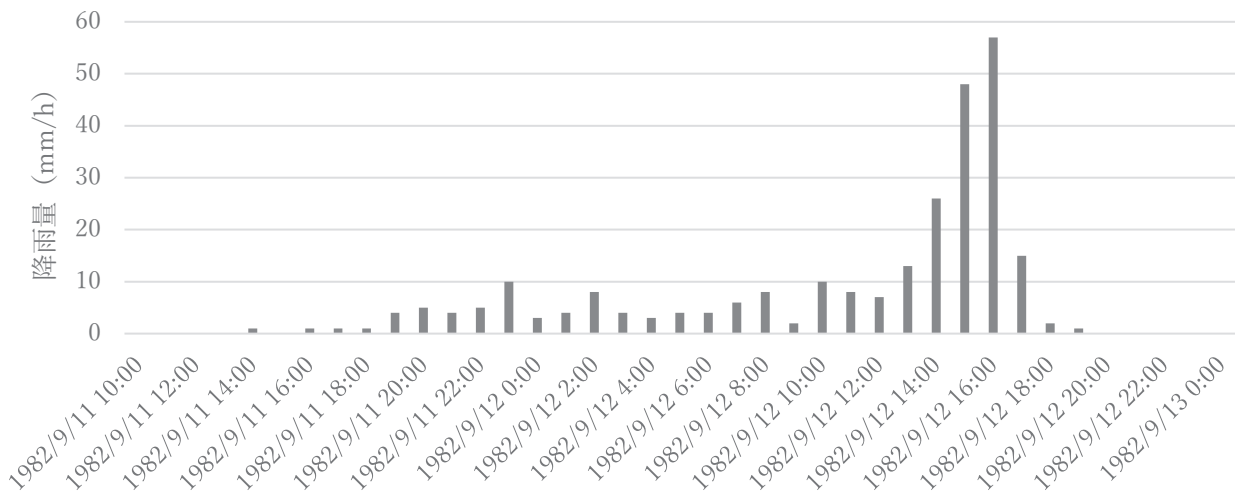


Fig.2 昭和 57 年（1982 年）9 月の台風 18 号時のアメダスデータ（世田谷観測所）

Table.1 土地利用の変化に伴う Green-Ampt モデルパラメータ設定値

土地利用被覆分類	Case1			Case2		
	kv (m/s)	$\phi$ (-)	Sf (m)	kv (m/s)	$\phi$ (-)	Sf (m)
公園・運動場等、畑	3.67E-06	0.463	0.0889	3.67E-06	0.463	0.0889
未利用地、用途改変中	5.56E-07	0.464	0.2088	3.67E-06	0.463	0.0889
道路	1.00E-07	0.3	0.273	2.12E-06	0.3	0.273
水面・河川・水路	0.00E+00	-	-	0.00E+00	-	-
その他	0.00E+00	-	-	0.00E+00	-	-

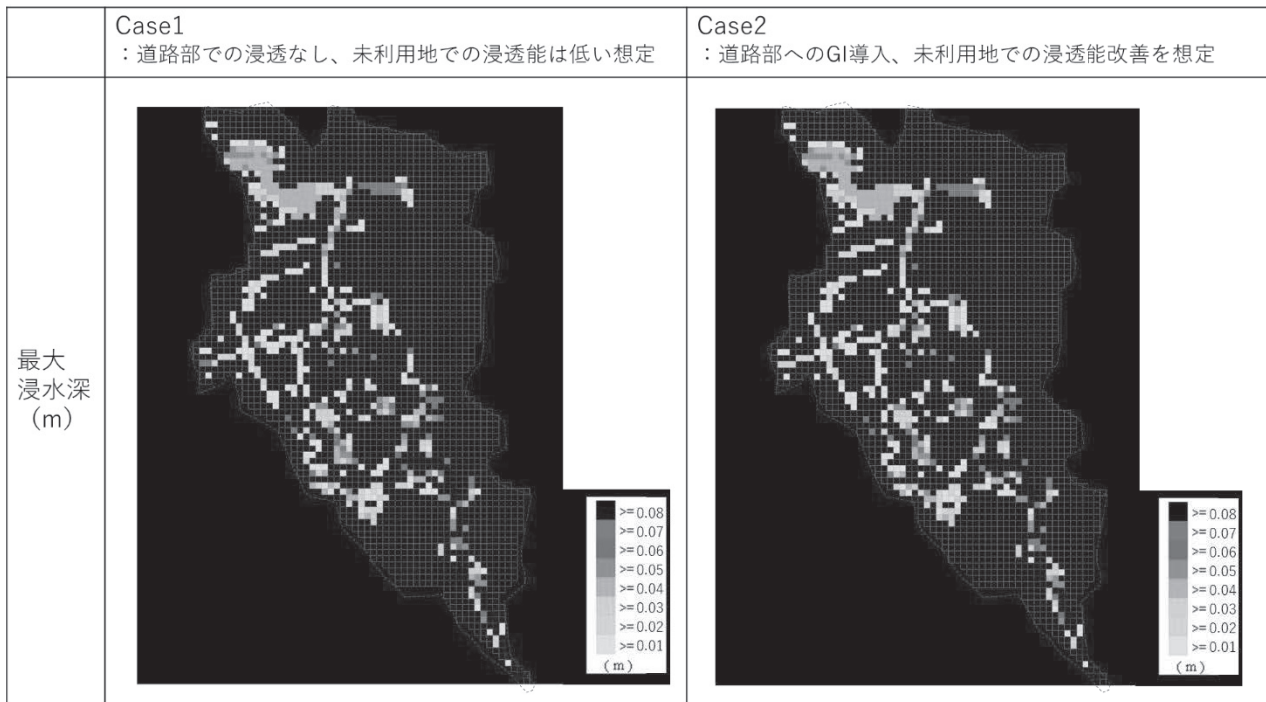


Fig.3 玉川野毛町公園周辺エリアにおける最大浸水深評価結果の比較

### グリーンインフラの測定：降雨流出の影響度の解析（岡澤）

本年度は、GIの測定と評価を行うために必要な場所の選定を目的とし、世田谷区全域ならびに、世田谷区西部の丸子川流域、谷沢川流域を対象に、降雨流出の影響度をGISにより解析した。水文学で流出特性の指標として広く用いられている Topographic Wetness Index（地形湿潤指標、TI）を用いて降雨時に発生する表面流（地表の浸透能が小さく、浸透せずに地表面を流れ出る流出水。洪水リスクの高い流出水）の発生リスクを評価した。

TI値は、GISのグリッドデータを用いて算出することができる。算定式を式（1）に示す。

$$TI = \ln\left(\frac{A_s}{\tan\beta}\right) \quad (1)$$

ここで、TIは Topographic Wetness Index、 $a_i$  は当該グリッドよりも上流側に有する流域面積（等高線単位幅あたりの上流面積が使われる [m<sup>2</sup>/m]）、 $\tan\beta$  は当該グリッドのこう配をあらわす。TIは流域内における各グリッドの恒常的な水の集まりやすさや溜まりやすさを示しており、主に地上の浸透能が低いエリアのゾーニングに用いることができる。そして、表面流の発生リスクを0～30の範囲で示すことができる。すなわち、流域面積が大きいグリッドや地形こう配が大きい箇所ではTI値が大きくなり、表面流が流れやすくなるという仮定が成り立つ。なお、世田谷区全体のTIは0から20の範囲内であったことから、ここでは、TIが0～5をClass I（表面流の発生リスクが極めて低い）、5～10をClass II（表面流の発生リスクが低い）、10～15をClass III（表面流の発生リスクが高い）、15～20をClass IV（表面流の発生リスクが極めて高い）と再分類した。

これらの解析は ArcGIS Pro で行った。また、地形データは国土基盤図の10mグリッドデータを使用した。土地利用図はJAXAが公開している「日本域10m解像度土地利用土地被覆図【2018～2020年】」を使用した。このなかで土地利用は、水域、水田、畑地、草地（芝地を含む）、落葉広葉樹、落葉針葉樹、常緑広葉樹、常緑針葉樹、裸地、竹林、ソーラーパネルに分類される。水田、畑地、草地を農地に、落葉広葉樹、落葉針葉樹、常緑広葉樹、常緑針葉樹を林地に再分類した。また、行政界、道路データ、緑地データ土地利用データなどは、Shapeファイル形式のものを世田谷区より提供して頂いた。上記のデ

ータを用いて、世田谷区全体（以後、世田谷と記述する）、世田谷区内に流域のある丸子川流域と谷沢川流域について解析を行った。

世田谷区、丸子川、谷沢川の土地利用を Table 1、2 に示す。本解析では、世田谷区の面積は 59.27 km<sup>2</sup>、丸子川は 6.64 km<sup>2</sup>、谷沢川は 4.64 km<sup>2</sup> であった。また土地利用は、雨水の浸透が小さい人工構造物（宅地などの建物）が世田谷区で 51.31 km<sup>2</sup>（86.6%）、丸子川で 5.91 km<sup>2</sup>（78.2%）、谷沢川で 4.14 km<sup>2</sup>（89.0%）であり、大部分を宅地が占めていた。また、雨水の浸透が高いとされる農地、林地、裸地、竹林の割合の合計は、各で 5.91 km<sup>2</sup>（9.90%）、0.98 km<sup>2</sup>（8.66%）、0.40 km<sup>2</sup>（6.10%）であり、これらの土地利用を対象とした GI の強化が必要になり、今回は土地利用割合を抽出することができた。

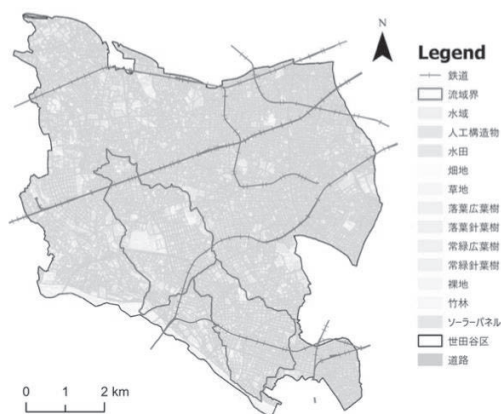


Fig.1 世田谷区の土地利用（赤線エリアの上流が丸子川流域，下流が谷沢川流域）

Table 1 各土地利用の面積 (km<sup>2</sup>)

	水域	人工構造物	農地	林地	裸地	竹林	ソーラーパネル	総面積
世田谷	0.09	51.31	3.50	1.86	0.48	0.07	0.10	59.27
丸子川	0.00	5.19	0.48	0.46	0.03	0.01	0.00	6.64
谷沢川	0.00	4.14	0.25	0.12	0.02	0.01	0.00	4.65

Table 2 各土地利用の面積比率 (%)

	水域	人工構造物	農地	林地	裸地	竹林	ソーラーパネル	総面積
世田谷	0.1	86.6	5.90	3.1	0.8	0.1	0.2	100.0
丸子川	0.0	78.2	7.26	0.8	0.5	0.1	0.0	100.0
谷沢川	0.0	89.0	5.40	0.2	0.4	0.1	0.0	100.0

世田谷区、丸子川流域、谷沢川流域における TI の Class I~IV の分類を Fig. 2 と Fig. 3 に示す。TI 値のクラス別に土地利用割合をみると、世田谷区では雨水の浸透が高いエリアにおいて表面流の発生リスクが高い Class III がエリア全体の 9.2%、丸子川が 6.8%、谷沢川が 12.9 であった。さらに表面流の発生リスクが極めて高い Class IV になると、世田谷が 13.0%、丸子川が 17.1%、谷沢川が最も大きく 29.8% であった。地形的に水がたまりやすいエリアに建物を建築することは避けていると考えられるため、雨水が浸透しやすい土地利用に Class III や Class IV が集中していると考えられる。そのため、このような場所に置いて今後はより雨水浸透機能を強化する試みが必要となる。そして、丸子川流域内では、桜新町

北側のエリアに Class III が、三軒茶屋を中心とするエリアに Class IV が集中して存在している。一方、谷沢川においては流域全体に Class III と Class IV が分布していることがわかる。今後は、このようなエリアの緑地などにおいて、雨水浸透の評価を試みることが、都市における雨水浸透を促進する上で重要となることがわかる。また、今回の解析では IT 値を表面流発生リスクの評価指標に用いた。世田谷区において TI 値を活用したリスク評価の事例はなく、GIS 上で視覚的にリスクを評価できるこの指標の効果は大きいと考えられる。

今後は、丸子川と谷沢川の流量観測を試み、流量の実測値を活用した水文解析によって現実味のある水の動きを検討する予定である。

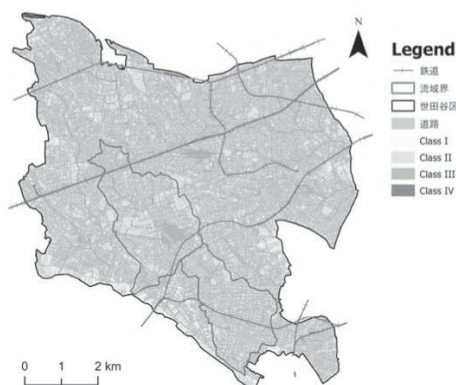


Fig.2 世田谷区の TI 分布 (赤線エリアの上流が丸子川流域、下流が谷沢川流域)

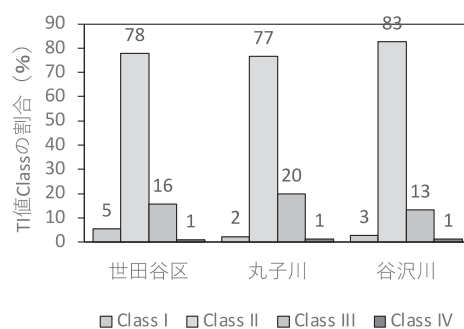


Fig. 3 Class に区分した TI 値の面積割合

### 土壌の雨水浸透能（鈴木）

流出の解析の際、土壌の雨水浸透能（浸潤特性）を表す指標として飽和透水係数などが必要である。野外での簡便な飽和透水係数の測定手段として、近年、携帯型ミニディスクインフィルトロメーター（METER 社）が広く用いられるようになってきた。これは、飽和に近い状態で直径 45 mm の焼結多孔質板から水を土壌に浸潤させ、積算浸潤量を時間の関数として近似したときに得るパラメーターから飽和透水係数を求めるものであるが、実用に関する検証がほとんどなされていなかった。そこで携帯型ミニディスクインフィルトロメーターによる飽和透水係数の測定について、土性の異なる土壌（砂壤土、軽埴土、埴壤土）を対象に検証を試みた。

## グリーンインフラの測定：・レーザスキャナによる墳丘墓の現況把握（國井）

本研究では世田谷区内における墳丘墓として、東京都世田谷区野毛1丁目25番、玉川野毛町公園内の野毛大塚古墳に着目した。墳丘墓は歴史的に階層の高い人物のために作られたものであるが、現在の観点ではグリーンインフラとしての役割が大きい存在である。また、野毛大塚古墳1989～1992年にかけて主体部を含めた総合的な発掘調査が行われ、墳丘整備工事が実施された。また盛土部分では周辺との調和を考慮して芝針が実施され、加えて階段、見学通路、防護柵が整備された。これらを踏まえ、当時の保存整備時に描かれた図面と比較することによって、地盤の細かい差異や現在までの変遷についての考察を行った。

本研究では地上3DレーザスキャナRIEGL VZ-400i（以下TLS）を用いて、周辺を含めた形態の点群データの取得を試みた。TLSでは約45秒という時間で機械が水平方向に360°回転し、周辺の物体に対して数十万の点群データを取得できる。現地調査は、野毛大塚古墳において2022年7月11日10～14時に、全112点の器械点を設けてデータ取得を行った。その後、取得したデータから樹木や人工物等の古墳以外の不要なデータを除去し、図-1に示すような点群データとした。一方、整備前の地形については、世田谷区に残されている野毛大塚古墳復元等高線平面図を用いて把握した。

以上により得られた、野毛大塚古墳における整備前後の立面図を図-2に示す。両者を比較すると、現在の地形はいずれの断面においても概ね1m程度小さくなっていることが確認された。同様の処理を、古墳における円形部分に対して計18箇所で行い、それぞれの断面に対して計画および整備前後での地形の状況について分析を行った。図-3はその成果の一部である。

本調査においては、野毛大塚古墳における地形の変遷を把握した。TLSを用いることにより点群データとして取得し、3次元モデル化も可能とした。今後の課題としては、成果をより定量的に分析することで、整備や維持管理に有用な成果を創出することを目標とする。

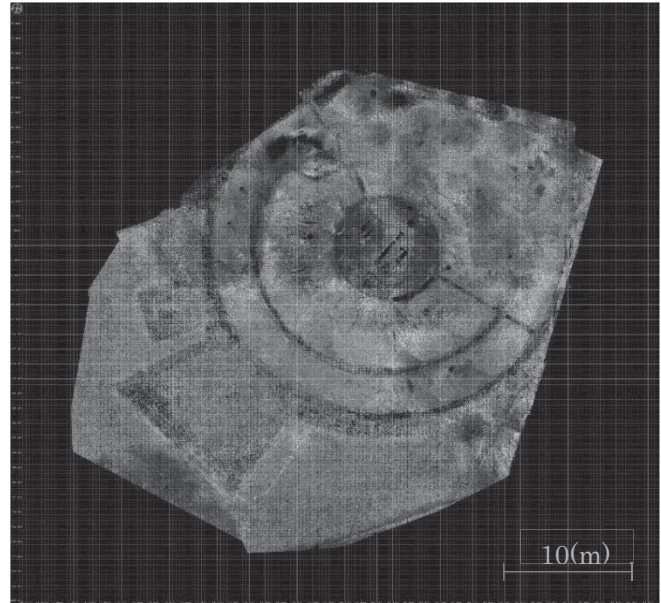


図-1 野毛大塚古墳における不要物の除去後の点群データ

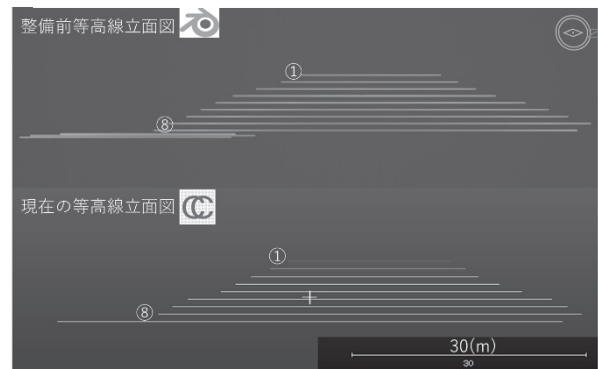


図-2 等高線立面図による比較

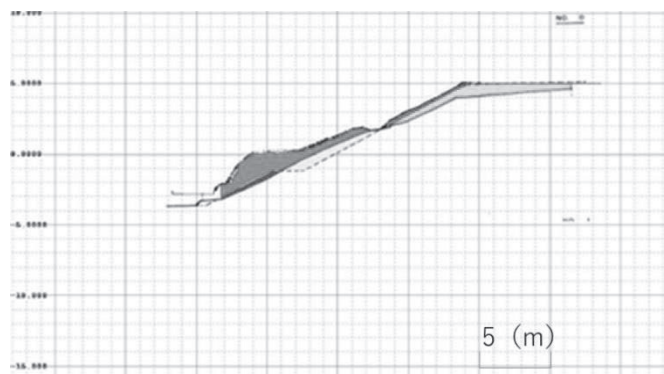


図-3 整備前（黄緑，黄，青）と現況（赤，紫）との比較断面図

## グリーンインフラの測定：植栽基盤の分析（金澤）

### ①都市公園における植栽基盤調査

世田谷区内の緑地（砵公園）を含む、都市公園7か所49個体のソメイヨシノを対象に、樹木の健全度と植栽基盤の調査（地表面の土壌硬度、貫入深度、土壌三相分布、土性）を実施した。地上部衰退度評価と土壌の液相率の測定結果から、土壌の液相率が高くなるほど樹木の衰退度が大きくなる傾向がみられた。また、樹木の根元付近30cm深の土性について、衰退度評価がやや不良と判定された個体周囲の土壌では、良と判定されたものよりもシルト質壤土割合が約10%高くなる傾向がみられた。今回の調査対象はおおよそ幹周が100cm以上の個体を対象としており、既存の樹木がある緑地において、土中に水分がたまりやすい状態の場合、樹種によっては衰退の可能性がある。今後、健全であると判定された個体の周囲土壌の詳細な解析を進めるとともに、対象区域での現地調査を進めたい。

### ②圃場実験による樹木の成長量比較

サクラ2種（オオシマザクラ、カンヒザクラ）を滞水区と排水区を設けて生育量を比較した実験では、滞水区と排水区で枯死率は変わらなかったが、生育量のうち樹高、根元径では排水区で生育量が大きく、節間長合計では滞水区で生育量が大きくなった。このことから、サクラの初期成長を見た場合、排水区でより生育が大きくなると考えられる。また、種間差ではオオシマザクラで滞水区と排水区の差が小さく、比較的滞水耐性が高い可能性がある。常緑広葉樹3種（ナツミカン、ウバメガシ、タブノキ）を黒土区と川砂区で生育量を比較した実験では、ナツミカン、ウバメガシは砂区の生育量が大きく、排水の良い土壌で生育が良いと考えられたが、タブノキについては黒土区で生育量が大きく、樹種間でも差があった。今後は一般的な植栽樹種、草種の耐水性についても整理したい。

※①②ともに学生の卒業研究の一部として実施

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

研究初年度である本年度の成果は本学包括連携協定先でもある世田谷区豪雨対策下水道整備課およびみどり政策課等に共有し、グリーンインフラ政策や計画への展開可能性を議論する予定である。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年度は対象地における基礎的データの収集および枠組み設定を明確にした上で、対象地である谷沢・丸子川流域内の玉川野毛町公園・上用賀地域などにおいて土地被覆と雨水流出抑制の基礎的な関係の把握や雨水流出モデルをはじめとするグリーンインフラ測定を実施した。今後に向けては、谷沢・丸子川流域内の分析対象範囲を拡大し、シナリオに基づく雨水流出抑制などグリーンインフラ導入効果の検証と、そのモデルについて更なる分析を進める予定である。加えて、植栽基盤や土壌浸透性能などの即地的な分析と合わせ、同エリアにおけるグリーンインフラ実装に向けた評価手法の確立を目指す。

※本企業MF型研究は2023年度の継続採択に至らなかったが、本学と竹中工務店の間で共同研究契約書を交わし、研究を継続中である。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

1) 北島未来、福岡孝則：谷沢川・丸子川の小流域におけるグリーンインフラ導入に向けた雨水流出抑

制効果に関する基礎的研究—世田谷区玉川野毛町公園周辺を対象として—、2022 年度日本造園学会  
関東支部大会梗概集/事例・研究報告集第 40 号、p.118

- 2) 謝定、福岡孝則：雨水流出抑制効果を考慮した GI 導入モデルとその適用に関する研究—世田谷区  
用賀 3、4 丁目・上用賀地区を対象として—、2022 年度日本造園学会関東支部大会梗概集/事例・研  
究報告集第 40 号、p.112

# 2022年度 企業とのマッチングファンド型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 國井 洋一

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
車載写真レーザ測量システムを用いた街路樹に対する維持管理手法の構築	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	國井 洋一	地域環境科学部 造園科学科・教授	街路樹データの処理手法に関する検討
研究代表者 (企業)	趙 子健	株式会社 CSS 技術開発	MMS の運用および利活用

## 3. 研究期間

2022年4月1日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

本研究では、都市部の主要道路における街路樹の状況を簡便に把握し、維持管理できる仕組みを構築することを目的とする。具体的な手法としては、株式会社 CSS 技術開発所有の車載写真レーザ測量システム（Mobile Mapping System：以下 MMS）による測量を対象とする道路にて実施し、沿道における数十本の街路樹に対する 3次元情報を一度に取得する。これにより、得られた 3次元情報から沿道を含めた街路樹の 3次元モデリングをほぼ自動で実行し、さらに枝葉の伸長や幹の傾斜、損傷といった現況を即座に把握可能とする。加えて、街路樹の無い空間においては、新規に植栽するシミュレーションを可能とし、沿道の最適な空間づくりを支援できるシステムの構築を目指す。

## 5. 研究目的

街路樹は、都市空間を創出する緑として重要な存在である。人工建造物の多い都市空間は、景観が無機質になりがちであるが、生き物である街路樹はそのような空間に安らぎや潤いを与える効果がある。街路樹の具体的な効果としてはそのような景観の向上のほか、道路周辺における日射の抑制や、排気ガスや騒音の拡散を軽減するなど、物理的な側面においても有用性が高い。そのため、特に人口や交通量の多い都市部においては、より効果的に植栽されることが望まれる。街路樹にはこのような利点がある一方、維持管理に対する課題も多く残されている。まず、街路樹が植樹される地盤の周囲は舗装面がほとんどであるため、根が十分に伸びにくい環境であることが多い。そのため、地盤上の樹木に対する支



持力の確保は、倒木を防ぐためにも不可欠となる。また、生長による枝葉の繁茂は、道路沿いに存在する電線との交錯や、信号や道路標識の遮蔽といったインフラの妨げにつながる恐れがあり、定期的な剪定も必要である。すなわち、生き物である街路樹は、その生物学的な性質により物理的な形態が随時変化するため、維持管理を適切に行うためには定期的な観測や観察が必要となる。街路樹の維持管理に対する現状としては、樹木医や街路樹診断士により、単木毎に観察してカルテの作成および更新が行われている。このような作業には多大な労力が必要となることから、維持管理が十分に行き届かない街路樹も必然的に増加することとなる。そのため、都市部では前述のように街路樹がインフラへ影響を及ぼす事案もしばしば発生し、やむなく強剪定されているのが現状である。

一方、土木の分野においては、主に都市部における数値地形図データを取得するための手法として、MMS (Mobile Mapping System) が用いられている。MMS はレーザおよび写真による測量機器を車両に搭載しており、車道を走行しながら沿道の地物に対する 3 次元情報を取得するシステムである。国土交通省国土院では、2016 年に MMS を公共測量作業規程の準則に導入し、地形図作成の新たな手法として利用可能とした。これにより、都市部で車両の通行が可能な道路においては効率的に 3 次元情報が点群データとして取得されることとなった。反面、MMS により都市部の地形図を作成する上では、人工建造物の 3 次元情報が必要とされ、街路樹などの植物の点群データは除去されることが多い。裏を返せば、MMS による測量においては街路樹の 3 次元情報が点群データとして取得されていることが明白であり、応用性を学術的に追究することが可能な状況であるといえる<sup>1)</sup>。

そこで本研究では、MMS および TLS (Terrestrial Laser Scanner) を用いて街路における沿道の点群データを取得し、点群データから街路樹を抽出して維持管理に役立てる仕組みの構築を目的とした。街路樹については形状が複雑であり、同一の形状を有している個体は一切存在しないことから、レーザ測量が有用であると予測される。既往研究においても、樹林帯における景観分析が TLS にて実施されている<sup>2)</sup>。本研究では車道側より MMS、歩道側より TLS にて街路樹の 3 次元データを取得し、維持管理のためのデータベース構築を試行した。

## 6. 研究（実験）方法

### (1) レーザ測量

MMS および TLS による街路樹の測量は、2021 年 8 月 3 日および 2022 年 12 月 2 日に実施した。対象地は図 1 に示すとおり、世田谷キャンパス周辺の千歳通りおよび世田谷通りの約 500m の範囲内における、総距離約 700m とした。対象とした街路樹は沿道の計 84 本であり、樹種は千歳通りがソメイヨシノ、世田谷通りがモミジバフウである。MMS については、図 2 に示す (株)CSS 技術開発が所有する Pegasus:Two(Leica)を用いた。MMS を搭載した車両は、千歳通りの東側車線を南下した後、世田谷通りの北側車線を東へ進行して観測を実施した。一方、TLS については図 3 に示す VZ-400i(Riegl)



図 1 調査対象範囲

を用いた。TLS によるレーザ測量は、MMS による測量と同範囲の歩道内において、各樹木の頂部までスキャニングが施されるよう実施した。その際の器械点数は、計 42 点であった。なお、MMS および TLS の観測時は、いずれも GNSS による測位が行われており、観測点の把握が行われている状況である。また、以上の 2 手法により取得された各点群データには、街路樹の他に周囲の道路や建物等の構造物も含まれている。それらの情報は、街路樹との相互関係により位置を把握する目的にも用いた。そのような

情報把握を実施した他、点群データから街路樹のみを抽出して処理への摘要も行った。

## (2) 近赤外 (NIR) 画像撮影

以上の処理によって街路樹に対する物理情報として 3 次元データを取得したが、対象が生き物であることを考慮すると生物情報の取得も必要である。そのため、本研究では 3 次元データ取得の他に近赤外カメラによる画像撮影を行った。近赤外画像の撮影には図 4 に示す Yubaflex(BIZWORKS)を用いた。Yubaflex は、通常のデジタルカメラにおける RGB (赤・緑・青) のバンドのうち、B バンドが NIR (近赤外) バンドに改造されている機種であり、同機種は樹林帯においても有用性が認められている (3)。本研究では本機種を用いて、歩道にて各街路樹の樹冠に対する撮影を行うこととした。その際、街路樹が植栽されている歩道からは近接で樹冠全体の撮影が困難であるため、撮影は対向車線側の歩道より行った。図 5 に Yubaflex による撮影画像の例を示す。以上により撮影された対象の街路樹に対する近赤外画像を用い、各街路樹に対する NDVI(Normalized Difference Vegetation Index)の算出を行った。NDVI はリモートセンシングの分析において用いられる植生の活性度を表す標準化された指数であり、次式にて算出される。

$$NDVI = \frac{(IR - R)}{(IR + R)} \quad (1)$$

ここに、

$IR$  = 赤外バンドのピクセル値

$R$  = 赤色のバンドのピクセル値

本研究では、NDVI を各街路樹の樹冠全体に対する平均値として算出し、単木毎の活性度として求めた。これにより、街路樹の生態的な現況が定量的に示されることとなるため、早急なメンテナンスが必要な個体の抽出なども可能となる。



図 2 Mobile Mapping System (Pegasus:Two)



図 3 Terrestrial Laser Scanner (VZ-400i)



図 4 近赤外カメラ (Yubaflex)



(b) ソメイヨシノ (千歳通り)



(a) モミジバフウ (世田谷通り)

図5 近赤外画像

## 7. 研究成果

MMS および TLS によるレーザ測量によって得られた 3 次元データは、未処理の状態においてそれぞれが一括化された状態となっている。そのため、本研究では対象とする全街路樹のデータを単木毎に分類し、個別に現況把握が可能となるよう処理を行った。それにより、単木に対する物理量を、点群データから把握することが可能となる。すなわち、各街路樹に対する個体の属性情報として、樹種のほかに、樹高、幹周、枝張をそれぞれ把握した。図6に点群データからの樹高、幹周、枝張の抽出を示す。以上により得られた単木毎の3次元データおよび属性情報は、閲覧を簡便化するために SketchFab を利用してデータベースを構築した。SketchFab は web 上で 3 次元データを閲覧できるシステムであり、専門知識を必要とせず自由度の高い鑑賞が可能となる。

また、図7は樹木個体毎の NDVI を示したものである。同図に示されるとおり、NDVI はいずれの樹木も高い値を示しており、維持が重要であることが確認できる。また、世田谷通りの NDVI は千歳通りと比較して高い値を示していることから、両道路の樹木種についても明らかに示すことが可能であるといえる。

図8に SketchFab により表示された各街路樹を示す。なお、SketchFab は以下 URL (<https://sketchfab.com/mmsroadside/tree/models>) にて公開されている。さらに、属性情報として前述の各値に加え NDVI を付与し、データ閲覧の際に情報取得が

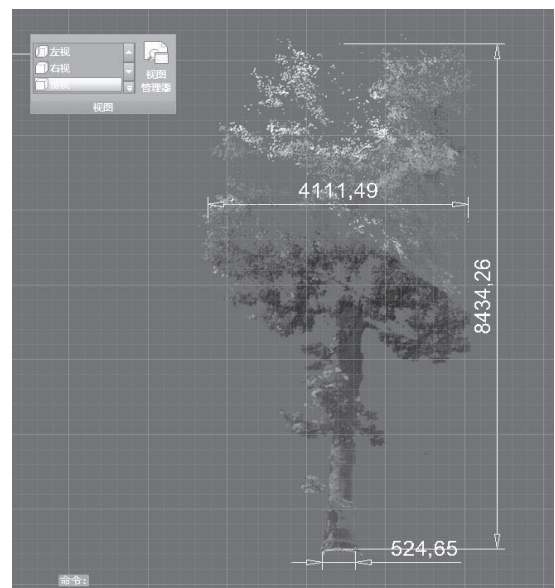


図6 点群データからの樹木の寸法抽出

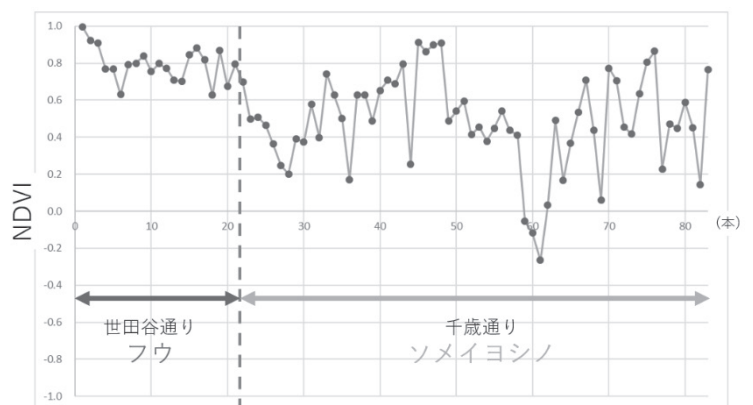


図7 樹木個体毎の NDVI

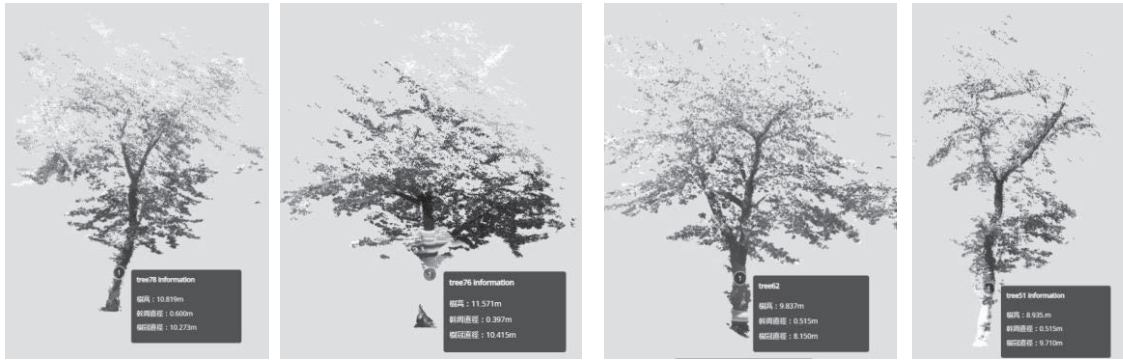


図8 SketchFabによる街路樹の情報公開

できるよう設定した。これにより、街路樹の位置情報と併せて閲覧することで、剪定等のメンテナンスを必要とする街路樹を地図上にて一目で把握することが可能となり、処理の効率化を図ることが可能になると予測される。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究では車道側より MMS、歩道側より TLS にて街路樹の 3 次元データを取得し、維持管理のためのデータベース構築を試行した。また、交通量の多い一般道における街路樹に着目し、その維持管理に対してレーザ測量を主軸とした空間情報技術を応用することを検討した。一般的な MMS は、地図を作成するために走らせることが目的であるため、街路樹の点群データが除去されることが多い。一方、本研究では通常と同様の走行データから街路樹を抽出し、樹高等のパラメータを現況として把握することと試みた。その結果、MMS による街路樹のデータは十分に取得可能であり、現況把握が可能であることが認められた。さらに、近赤外画像センサにて撮影することによる状況の把握も試みた結果、取得された近赤外データから各樹木の NDVI を算出することにより、街路樹の活性度をそれぞれ把握することが可能となった。この成果は、街路樹に対する早急処理の不必要を定量的に示すものであるといえる。すなわち、これまでやむを得ず網羅的に強剪定が施されたような状況の街路樹においても、個体毎の活性度を詳細に得ることが可能となった。そのため、このような情報を活用することにより、街路樹に対する剪定等の維持管理についても、個体毎に相応しい手法を採用することが可能になると予測される。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

通常、MMS は町並みの 3 次元情報を取得するために走行され、取得されたデータは地図情報として用いられることが多い。本研究では、そのような通常の利用において削除対象となる街路樹を抽出して応用を検討した。その結果、MMS および TLS のデータは、街路樹に対しても適用可能であることが示された。今後の課題として、本研究では TLS によって街路樹に対する歩道側からの補備測量を実施したが、手動での作業となるため労力が負担となる。そのため、今後は MMS データのみでの有用性も検証したいと考えている。また、近赤外画像によるデータ取得は、MMS とは別のプロセスにより対向車線側の歩道から撮影を実施した。今後は MMS に広角レンズによる近赤外センサが搭載され、レーザ測量による点群データと同時に近赤外画像を取得することが可能となれば、データ取得の効率性が大幅に上昇すると考えられる。今後はそのような機器のバージョンアップにも期待しながら、研究を継続して進めたいと考えている。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Ryuki TACHIKAWA, Yochi KUNII (2022) : Comprehensive quantitative understanding of the landscape using TLS point Cloud Data, ISPRS Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences, XLIII(B2) , 297-302.

### 学会発表

- 1) 舘川龍希, 國井洋一 (2022) : 3次元点群データを用いた定量指標の適用性と心理分析による景観の把握に関する研究, 2022年度日本造園学会関東支部大会梗概集/事例・研究報告集, 46-47
- 2) 奥田朋大, 國井洋一 (2022) : 植木販売に対するARとフォトグラメトリの活用, 2022年度日本造園学会関東支部大会梗概集/事例・研究報告集, 62-63
- 3) 菅井一樹, 國井洋一 (2022) : TLS及びUAVを用いた3次元測量における造園空間への応用に関する研究, 2022年度日本造園学会関東支部大会梗概集/事例・研究報告集, p.110
- 4) 半沢千, 國井洋一 (2022) : 箱根方面の有料道路における景観分析と快適走行に関する研究, 2022年度日本造園学会関東支部大会梗概集/事例・研究報告集, p.110

# 2022年度 東京農業大学 若手・女性研究者支援プロジェクト 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)
植物の基礎的抵抗性における細胞死抑制機構の解析	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	ゲノム解析以外の全般
研究分担者	篠澤 章久	生命科学部 バイオサイエンス学 科・助教	ヒメツリガネゴケゲノムの解 析

## 3. 研究期間

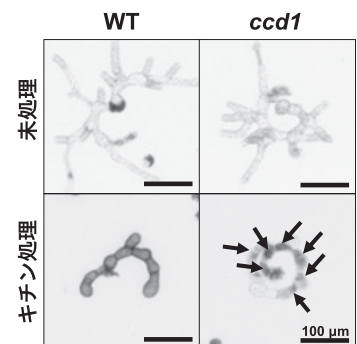
2022年6月8日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

植物の基礎的抵抗性は微生物に共通して保存されている構造（パターン）を認識することで発揮され、植物を日和見感染から防ぐ。この基礎的抵抗性は被子植物に加え、近年コケ植物でも報告されたことから（Bressendorff et al., *Plant Cell* 2016）、高等植物への進化の過程で複雑化する前に獲得、保存された重要なシステムであると推測される。基礎的抵抗性に関わる因子を探索するために申請者らは遺伝的冗長性の低いコケ植物に着目した。

蘚類に属するヒメツリガネゴケは一層からなる単純な細胞構造を持ち、野生型株（WT）でパターン的一种であるカビの細胞壁成分キチンの処理により誘導される褐変化や生育阻害などの免疫応答を細胞レベルで解析することが可能である（挿入図1）。また、1細胞からの再分化能が高いため突然変異処理による網羅的な変異体スクリーニングが可能である。これまでに、キチン処理により褐変化が誘導されず細胞死が促進する変異体

（*chitin-induced cell death mutant*）：*ccd* を複数系統単離している（挿入図1、2021年度 植物生理学会で責任著者として発表）。



挿入図1  
ヒメツリガネゴケ原糸体をキチンで2日間  
処理後にEvans Blue染色した写真  
(左: WT (右): *ccd1* 矢印: 死細胞)

## 5. 研究目的

本申請においては、*ccd* 変異体の原因遺伝子同定のための遺伝子マッピング系を確立するとともに *ccd* 変異体の表現型解析によりキチン誘導性細胞死の誘導機構を明らかにする。

## 6. 研究（実験）方法

### 《原因遺伝子の探索》

#### 1, InDel マーカーの作製

これまでにヒメツリガネゴケで報告されたエコタイプは標準種 Gransden (Gd) との交配能が低く、遺伝学的な解析ツールが整えられてない。近年、交配能が高いエコタイプとして Reute (Re) が報告されたが (Perroud et al., *Plant Biol.* 2019)、ゲノム情報は公開されていない。これまでに、ゲノム解析センターの篠澤章久博士の協力を得て Re ゲノムの short-read シークエンスを実施している。2022 年度は、Gd と Re を区別するための挿入および欠損配列を同定することで InDel マーカーを作製する。ヒメツリガネゴケの染色体数は 27 本あり、1 染色体の上・中・下で 3 セット、27 染色体で合計 81 セットのマーカーを設計する。

#### 2, マッピング

これまでに Gd 背景に変異原処理して得られた *ccd1* と Re との掛け合わせが成功し、キチン誘導性細胞死を示す F1 を単離した。さらに 1 回の掛け合わせを行いにより原因遺伝子領域を全ゲノムの 25% に絞り込む。*ccd2* については 2022 年度中に 1 回 Re との掛け合わせにより原因遺伝子領域を全ゲノムの 50% に絞り込む。得られた *ccd1BC1F1*、*ccd2F1* を用いてマッピングにより原因遺伝子領域を絞り込む。

#### 3, MutMap 解析

MutMap 解析は、イネにおける突然変異形質の原因遺伝子を全ゲノム解析により迅速に同定する技術として報告された (Abe et al., *Nat. Biotechnol.* 2012)。Re の short-read シークエンスデータから得られた配列をつなぎ合わせたコンティグを用いて MutMap 解析を行う。*ccd1BC1F1* からゲノムを抽出し、均一に混合したゲノム DNA をバルクシークエンスに供す。得られた 75~100 塩基を Re ゲノムコンティグにアライメントすることにより共通して Re と異なる SNP を見出す。

### 《*ccd* の表現型解析》

#### 1, Ca<sup>2+</sup>キレート剤を用いた Ca<sup>2+</sup>と細胞死の解析

大豆において活性酸素種により誘導される細胞死が Ca<sup>2+</sup>依存的であることが分かっている (Levine et al., *Current Biol.* 1996)。そこで *ccd* における細胞死が Ca<sup>2+</sup>依存的なものであるのかを確かめるために、Ca<sup>2+</sup>チャネルブロッカーである La<sup>3+</sup>をキチンと同時処理した結果、細胞死が抑制されることを明らかにしている (2021 年度 植物生理学会で責任著者として発表)。2022 年度は、Ca<sup>2+</sup>に高い選択性を示すキレート剤である BAPTA を用いてキチンによる細胞死誘導が Ca<sup>2+</sup>依存的であるかを明らかにするとともに通常生育培地に含まれる Ca<sup>2+</sup>濃度を変化させ、Ca<sup>2+</sup>濃度依存的な細胞死誘導が起こるかを解析する。

#### 2, Ca<sup>2+</sup>センサーG-CaMP 用いた Ca<sup>2+</sup>と細胞死の解析

細胞内の Ca<sup>2+</sup>濃度と細胞死の関係を細胞レベルで解析するために、カルシウムセンサーとして機能し、Ca<sup>2+</sup>濃度が高いほど明るい蛍光を発する G-CaMP を WT と *ccd* に恒常的に発現させた形質転換体を作成

する。

## 7. 研究成果

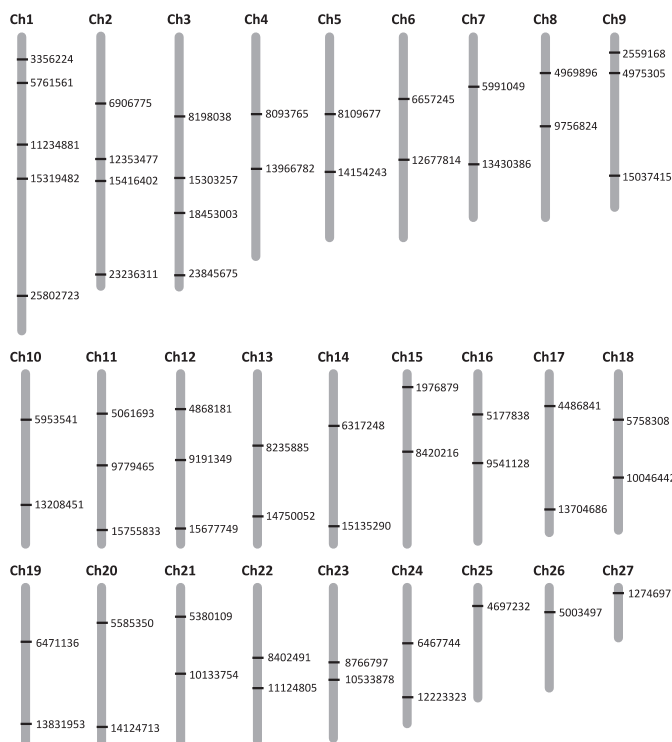
### 《原因遺伝子の探索》

#### 1. InDel マーカーの作製

これまでの Re ゲノムの short-read シークエンスデータから得られた配列情報に基づいて、2022 年度はヒメツリガネゴケが保有する 27 本の染色体において、合計 61 セットの Gd と Re を区別するための InDel マーカーを設計した (挿入図 2)。

#### 2. マッピング

これまでに Gd 背景に変異原処理して得られた *ccd1* と Re との掛け合わせにより F1 を単離した。2022 年度は、さらに 1 回の掛け合わせにより *ccd1BC1F1* を単離した。*ccd2* については *ccd2F1* を単離した。*ccd1BC1F1* を用いてマッピングを行った結果、第 12 染色体の 5880565 から 6432700 の領域に低い組換え価を得た。5880565 から 6432700 の領域、約 550kb には 50 遺伝子が存在する。さらに *ccd2F1* を用いたマッピングにおいても同じ領域に低い組換え価を得た (2023 年度 植物生理学会で責任著者として発表)。



挿入図 2

ヒメツリガネゴケ染色体と InDel マーカーの位置

#### 3. MutMap 解析

*ccd1* における原因遺伝子の同定を目的として *ccd1BC1F1* を 150 個体単離した。ゲノムを抽出後に均一に混合したゲノム DNA をバルクシークエンスに供した。得られた 75~100 塩基の配列を、Re ゲノムの short-read シークエンスデータから得た Re ゲノムコンティグにアライメントすることにより、共通して Re と異なる原因 SNP をもつ箇所の同定を試みた。シークエンスの結果、35Gb のデータ量を得ることができ、原因遺伝子座位として候補に挙げられた 11 種のコンティグを得ることに成功した。しかしながら、5880565 から 6432700 の領域内の遺伝子には共通した原因 SNP は同定されなかった。この理由として、コケ植物の生活環は半数体の配偶体世代が優勢であり、今回 MutMap 解析には半数体のヒメツリガネゴケ原系体を使用しているため、150 個体という数が少なかった可能性が考えられた。さらに、ヒメツリガネゴケゲノムは 450Mb であるので、今後はゲノムサイズの 10 倍から十数倍程度のデータ量を得ることで原因 SNP の同定が可能になることを期待したい。さらに今後 Re の long-read ゲノムシークエンスを実施することにより Re ゲノムの整備について進める必要があると考える。

### 《*ccd* の表現型解析》

#### 1. Ca<sup>2+</sup>キレート剤を用いた Ca<sup>2+</sup>と細胞死の解析

2022 年度は、Ca<sup>2+</sup>に高い選択性を示すキレート剤である BAPTA を用いてキチンによる細胞死誘導が



Ca<sup>2+</sup>依存性であるかを解析した。その結果、キチンで誘導される細胞死が BAPTA と同時処理することで抑制された。このことから、キチン誘導性の細胞死は Ca<sup>2+</sup>依存性であることが示された (2023 年度 植物生理学会で責任著者として発表)。

## 2. Ca<sup>2+</sup>センサーG-CaMP 用いた Ca<sup>2+</sup>と細胞死の解析

細胞内の Ca<sup>2+</sup>濃度と細胞死の関係を細胞レベルで解析するために、カルシウムセンサーとして機能し、Ca<sup>2+</sup>濃度が高いほど明るい蛍光を発する G-CaMP を WT と *ccd1* に恒常的に発現させた形質転換体を作成した。今後、得られた形質転換体におけるキチン処理後の継時的な観察を蛍光顕微鏡を用いて実施する。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

なし。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

マッピングにより *ccd* 変異体の原因遺伝子座は第 12 染色体の 5880565 から 6432700 の領域、約 550kb に絞り込まれた。この領域には 50 遺伝子が存在する。今後、*ccd1* および *ccd2* のゲノムリシーケンスを実施することにより共通して変異が生じている遺伝子を特定しその中から原因遺伝子を同定する。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 市橋武、安部優希、太治輝昭、坂田洋一、四井いずみ  
ヒメツリガネゴケにおけるキチン誘導性細胞死変異体 (*ccd1*) の解析  
日本植物学会第 87 回大会 (京都)、2022 年 9 月 15 日、17 日～19 日
- 2) 市橋武、安部優希、太治輝昭、坂田洋一、四井いずみ  
*Physcomitrium patens* におけるキチン誘導性細胞死 (*ccd*) 変異体の単離および解析  
第 64 回日本植物生理学会年会 (仙台)、2023 年 3 月 10 日～17 日

# 2022年度 東京農業大学 若手・女性研究者支援プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 眞榮田 麻友美

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
黒麹菌由来フェノール酸脱炭酸酵素の誘導・発現メカニズムの解明	1,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	眞榮田麻友美	応用生物科学部学部 醸造科学科 学科・助教	

## 3. 研究期間

2022年6月8日～2023年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

泡盛は沖縄の伝統的な蒸留酒であり、3年以上熟成させると芳醇な香りを持つ古酒になる。泡盛古酒香の特徴香であるバニリンは米の細胞壁に結合しているフェルラ酸 (FA) に由来している。泡盛醸造中、細胞壁に結合している FA が黒麹菌が持つフェルラ酸エステラーゼによって遊離し、その FA が 4-ビニルグアヤコール (4-VG) に変換され、貯蔵中に非酵素的酸化によってバニリンに変わることが知られている。これまでに泡盛醸造中の 4-VG 生成は酵母や乳酸菌による酵素変換または蒸留時の熱によって生成されると考えられていたため、酵母や乳酸菌の研究、蒸留方法の検討などが行われていた。一方で、*Aspergillus luchuensis* のゲノムが公開された際にそのゲノム上に酵母や乳酸菌が持つフェノール酸脱炭酸酵素 (PAD) が存在することが明らかとなった。申請者はこれまでに黒麹菌由来フェノール酸脱炭酸酵素 (AIPAD) が泡盛醸造中の 4-VG 生成の主要因であることを明らかにした。また、AIPAD は製麹時間と伴に発現量が増加すること、米ぬかなどで誘導されることを明らかにした。しかし、製麹後期で AIPAD の発現量が増加する理由や AIPAD の誘導物質などは明らかになっておらず、これらを明らかにすることで AIPAD の誘導・発現メカニズムの基礎的な知見を得られると考え本研究を着想した。

## 5. 研究目的

本研究は、4-VG 生成に関わる転写因の探索および AIPAD の誘導物質・誘導条件を明らかにすることを目的として行った。

## 6. 研究（実験）方法

### ①AIPAD 転写因子の探索

転写因子破壊ライブラリーを用いて、転写因子の探索を行った。各転写因子破壊株を完全合成培地で 18 時間培養し、次に 1 mM FA を含む最小培地で 5 日間培養し、AIPAD の誘導を行った。誘導後、誘導菌体を回収し、5 mM FA を含む生理食塩水に誘導菌体を添加し、24 時間静置後、上清中に含まれている 4-VG 量を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて定量した。

### ②AIPAD 誘導物質の探索

黒麹菌を完全合成培地で 18 時間培養し、誘導物質を含む最小培地で AIPAD の誘導を行った。誘導は 0、24、48、72、96 および 120 時間行った。得られた誘導菌体をマルチビーズショッカーを用いて破碎し、タンパク質抽出液を調整した。調整した抽出液を用いてタンパク質量を揃えてウエスタンブロッティングを行い、AIPAD のシグナル強度を ImageJ を用いて定量した。コントロールとしてリコンビナント AIPAD (rAIPAD) を用いた。誘導時の培地上清中に含まれている糖類や FA はグルコース CII-テストワコーまたは HPLC を用いて測定した。

## 7. 研究成果

### ①4-VG 生成に関わる転写因子の探索

液体培地で培養できなかった転写因子破壊株を除く計 112 種の転写因子破壊株の 4-VG 生成量を測定した結果、計 23 株において親株より 4-VG 生成量が増加し、残りの計 89 株において 4-VG 生成量が減少した（図 1）。

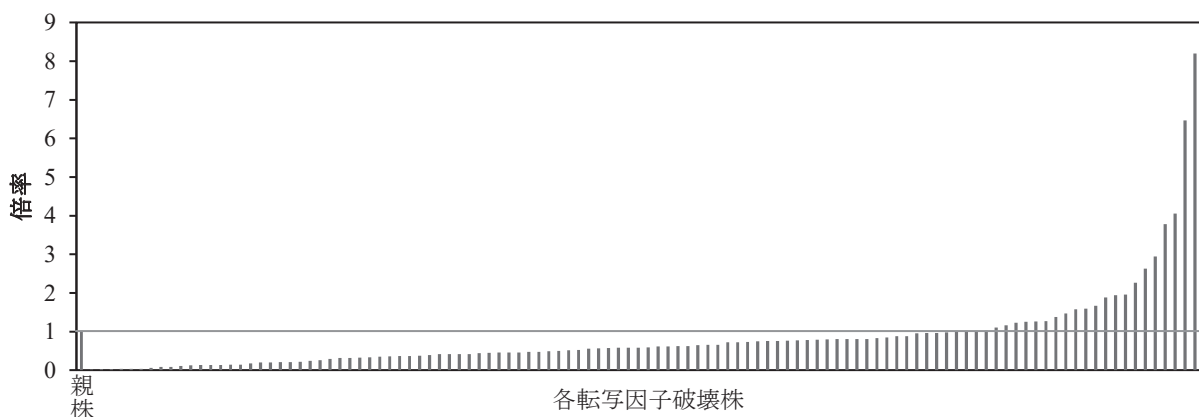


図1. 親株と転写因子破壊株の4-VG生成量の比較  
親株の4-VG生成量を1とした時の各転写因子の4-VG生成倍率

最も 4-VG 量が減少した転写因子破壊株は親株と比較すると約 1/50 倍に減少していた。この転写因子は分生子内の炭素源や窒素源の利用に関する転写因子であった。4-VG 量が減少した株はその他にも糖新生代謝や窒素代謝系の関連遺伝子の抑制に関するもの、炭素源飢餓に応答し細胞外プロテアーゼの生産に関与する転写因子などの破壊株であった。また、4-VG 生成量が約 1/50 倍に減少していた転写因子は分生子のストレス応答や分生子の発芽に関する転写因子でもある。分生子関連において 4-VG 生成量が減少した株は、分生子形成を正に制御するものや分生子の発芽や菌糸柄の成長に関する転写因子の破壊株であった。このことから、炭素源や窒素源の代謝の異常や分生子形成に異常が起きることで 4-VG 生成量が減少する可能性が示唆された。

最も 4-VG 生成量が増加した転写因子破壊株は親株と比較して約 8 倍増加していた。この転写因子については機能が明らかになっていない。次に 4-VG 生成量が高かったのは、細胞壁分解酵素の発現に関

与する転写因子であった。その他にもセルラーゼの制御に関する転写因子やガラクトースの酸化還元経路に関する転写因子破壊株において 4-VG 量が増加していた。また、分生子の形成を負に調節する転写因子や分生子柄の発達の調節に関する転写因子破壊株においても 4-VG 生成量が増加していた。その他、糖新生や TCA サイクルの調節に関する転写因子、アミノ酸代謝や尿素回路に関する転写因子破壊株において 4-VG 生成量が増加していた。これらのことから、一部の細胞壁分解酵素の生産や代謝が抑制される、または炭素源や窒素源の代謝の異常、分生子の形成が正に調節されることで 4-VG 生成量が増加する可能性が示唆された。

以上のことから、麹菌による 4-VG 生成は炭素源や窒素源の代謝、分生子の形成状態、細胞壁分解酵素の生産とその生成物の代謝と関係があると推察された。

## ②AIPAD 誘導物質の探索

これまでに米ぬかによって AIPAD が誘導されることが確認されていることから、本実験方法でも AIPAD が発現するのか確認した。その結果、誘導 96 時間から 120 時間にかけて AIPAD の発現量が著しく増加していることがわかった (図 2)。また、誘導時の培地上清中に含まれている単糖および FA を定量した結果、培地調製時に遊離していた糖が 24 時間後にほぼ消費されていることが確認された (図 3)。FA は誘導 0 から 48 時間目にかけて減少し、その後増加することが確認された。これまでに、麹菌は FA を唯一の炭素源としても生育できることが確認されており、FA を遊離するフェルラ酸エステラーゼ (FAE) は FA などによって誘導されることが知られている。よって、誘導前半の FA の減少は麹菌によって利用されたことで減少し、その後の増加は FAE によって植物細胞壁から FA が遊離したことによって増加したと考えられた。このことから、誘導初期は糖類を代謝し、その後 FA などを利用することによって AIPAD が誘導後期に発現すると考えられた。

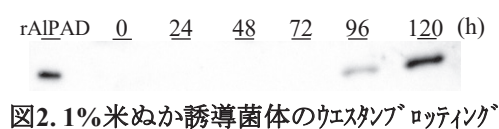


図2. 1%米ぬか誘導菌体のウエスタンブロットニング

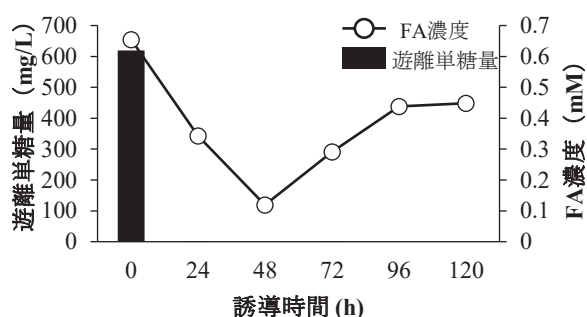


図3. 1%米ぬか培地上清中の総単糖量およびFA濃度

次に、1 mM FA を用いて誘導を行った。その結果、誘導 96 時間目から 120 時間目にかけて AIPAD が発現していた (図 4)。しかし、その発現量は米ぬかの発現量の約 2/3 程度であった。このことから、米ぬかには FA 以外の誘導物質が存在することが示唆された。



図4. 1 mM FA誘導菌体のウエスタンブロットニング

次に 1%グルコース (Glc) で誘導した場合に AIPAD が発現するのか調べた。その結果、誘導 120 時間後に AIPAD の発現が確認された (図 5)。次に、各誘導時間の培地中の残存 Glc 量を調べた結果、72 時間目に Glc がほぼ消費されていた (図 6)。このことから、AIPAD は Glc などの炭素源が無くなってから 48 時間以上経過すると発現すると考えられた。



図5. 1%グルコース誘導菌体のウエスタンブロットニング

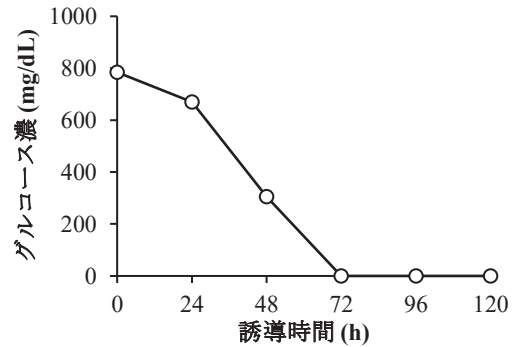


図6. 各誘導時間ごとの残存グルコース量

そこで、栄養豊富な完全合成培地で培養した培養菌体を炭素源を含まない最小培地に移し替えることで AIPAD が発現するのか調べた。その結果、72 時間後に AIPAD の発現が確認された (図 7)。このことから、AIPAD は培地に含まれている Glc によって著しく抑制されている。または、炭素源飢餓状態になると発現すると考えられた。



図7. 炭素源を含まない培地で培養した時のウエスタンブロットニング

次に、各ウエスタンブロットニングから得られたシグナル強度を比較した結果、どの条件においても 1%米ぬか相当の発現量を示さないことがわかった (図 8)。このことから、米ぬかには FA 以外にも誘導物質がある。または、糖による抑制解除と誘導物質による相乗効果によって誘導される可能性が考えられた。

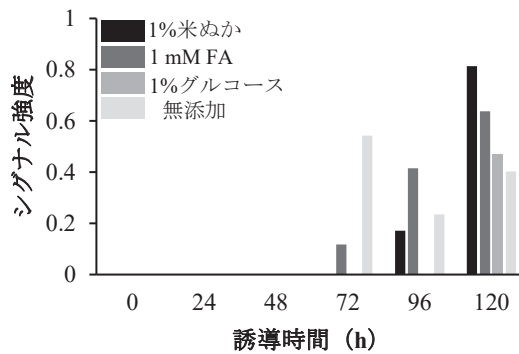


図8. 各誘導物質・誘導条件ごとのAIPADのシグナル強度  
rAIPADのシグナル強度を1とした時のシグナル強度

## 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

本実験では、AIPAD や 4-VG 生成に直接関与している転写因子や AIPAD の誘導に直接関与する誘導物質や条件を明確にすることができなかった。よって、転写因子については RNA-seq などを用いて AIPAD が誘導される条件下でどのような遺伝子が増減しているのか調べ、AIPAD の誘導・発現に関与している転写因子などの遺伝子を明らかにしていく。一方で、4-VG 生成に関与していると推定される転写因子

を選抜することができたことから、AIPAD がどのような代謝と関連しているのか、今回選抜した転写因子をもとに調べる。また、今回新たに炭素源飢餓状態で AIPAD が発現すると考えられたことから、炭素源代謝やオートファジーなどとの関連性についても検討する。

## 10. 公表した成果一覧

なし

# 研究所記事

## 東京農業大学総合研究所研究会 令和4年度事業報告

(令和4年4月1日～令和5年3月31日)

### 1. 概要

#### 1) フォーラム

令和4年度は総研フォーラムを2回、開催した。

#### 2) 研究会事務

総合研究所スタッフのうち事務局担当者により業務を遂行した。

### 2. 会員数の状況

	R4.3.31 時点	入 会	退 会	R5.3.31 現在
顧 問	2			2
名誉会員	7		1	6
法人会員	183	3	11	175
個人会員	103	12	7	108
特別会員(A)：総研職員(客員を含む)	118	13	4	127
特別会員(B)：東京農大教職員	204	7	2	209
合 計	617	35	25	627

※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4年7月8日（金）

開催方法：オンライン

#### 2) 第41回 通常総会

開 催 日：令和4年7月8日（金）

開催方法：オンライン

#### 3) 特別講演

開催日：令和4年7月8日（金）（第41回 通常総会時に実施）

開催方法：オンライン

講演1テーマ：「日本版栄養プロファイルモデル試案の作成プロセスと妥当性評価」

講 師：東京農業大学 教授 石見 佳子氏

講演2テーマ：「植物の環境ストレス応答と耐性の獲得機構の解明」

講 師：東京農業大学 教授 篠崎 和子氏

#### 4) 常任理事会

事業計画及び今後の事業方針等を検討した。

開 催 日：令和4年5月30日（月）

開催方法：オンライン

出席者：常任理事等11名

#### 5) 部会企画の特別活動

令和4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。

- ・グローバル情報研究部会

「部会の企画による本の刊行」

- ・GIS研究部会

「JAの営農指導用デジタル地図作成とGISを活用した学生起業向研修会の準備」

- ・食・農データサイエンス部会

#### 4. フォーラムの開催

- 地方創生とアグリビジネス アクアポニックス、廃校利用の事例

(主催：植物工場研究部会)

日 時：令和4年12月7日(水) 16時20分～17時20分

会 場：東京農業大学世田谷キャンパス横井講堂

プログラム：

1. オープニングガイド「SDGsと地方創生」 植物工場研究部会 部会長 山中 宏夫
2. 「廃校を利用したオフグリッド型アクアポニックスの実現」  
株式会社 HPRS 代表取締役 佐藤 弘幸

- 農業・関連企業のイノベーション部会発足記念シンポジウム

～農業のイノベーションをどう興すか～

(主催：農業・関連企業のイノベーション部会)

共催：東京農大経営者会議、グローバル情報研究部会)

日 時：令和5年1月20日(金) 13時00分～17時00分

会 場：東京農業大学世田谷キャンパス横井講堂

プログラム：

1. 開会の辞 総合研究所 所長 矢嶋 俊介
2. 部会長挨拶 農業・関連企業のイノベーション部会 部会長 堀田 和彦
3. 農業×教育イノベーション 東京農業大学 学長 江口文陽
4. 農業×加工イノベーション 前田農産食品株式会社 代表取締役社長 前田 茂雄
5. グローバル思考×イノベーション グローバル情報研究部会 武原 タイ
6. 農業×起業イノベーション 株式会社農業総合研究所 代表取締役会長 CEO 及川 智正
7. パネルディスカッション
8. 閉会の辞 東京農大経営者会議 会長 久保 富雄

#### 5. 「東京農業大学農生命科学研究所 紀要 第33号」の刊行

- 1) 内 容：研究所記事として、総合研究所研究会令和3年度事業報告を掲載
- 2) 発行日：令和5年1月1日

#### 6. 部会活動報告 (34 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4(2022)年度 活動報告

1. 稲・コメ・ごはん部会 第11回ウェビナー開催

～チルド米飯ニーズと加工製造課題に即応する超多収低アミロース米系統の早期育成～

チルド米飯ニーズと加工製造課題に即応する超多収低アミロース米新系統が、ゲノム育種と計量化学手法を用いた育種法により進められている。加えて、低アミロース米に最適な冷蔵弁当・おにぎり等の用途別成形性や米飯の低温流通特性の解明により、低アミロース米の普及加速化が計られている。その結果、開発した品種が中食市場のチルド米飯用に採用され、家庭内外の食の簡便化(調理時間の減少)や食品ロス削減に役立つと同時に、これら品種の需要喚起と契約栽培による安定生産が期待されている。その最新情報をわかりやすく提供した。

2022年10月26日(水) 15:00～17:35 約60団体参加

1. 「この事業の概要と目指すもの」  
渡邊 麻由子 (岩手県農業研究センター 生産基盤研究部 作物育種研究室)
2. 「低アミロース米全般の品質、チルド適性について」  
岡留 博司 (農研機構 食品研究部門)
3. 「実需者からの低アミロース米の評価について」  
安藤 美紀子 (伊藤忠食糧株式会社 米穀本部米穀サポート室)



- 4・「低アミロース米の米胚乳酵素活性量解析」  
辻井 良政 (東京農業大学 応用生物科学部 農芸化学科)
- 5・「チルド米飯適性に優れた超多収低アミロース米系統の育成」  
小館 琢磨 (岩手県奥州農業改良普及センター)
- 6・「低アミロース米品種のアミロース含有率の登熟気温応答の解析およびアミロース含有率の予測手法の開発」  
熊谷 悦史 (農研機構 農業環境研究部門)
- 7・「低アミロース米の消費者ニーズ、社会実装」  
安江 紘幸 (東北農業研究センター 水田輪作研究領域)

2. 稲・コメ・ごはん部会 第12 ウェビナー開催  
～新機能コメ開発の最前線～

近年では、わが国におけるコメの消費は漸減傾向に歯止めがかからず、食味に重点を置いた改良のみならず、健康機能改善に寄与する「新機能コメ」を開発し、新たな側面からのコメ消費増加を図ることが強く望まれている。今回の研究会ではゲノム編集による新機能付与の可能性や既存の稲遺伝資源や突然変異体の中から、目的とする新機能を備えた稲・コメを探索・育種する試みを紹介した。

2023年2月24日(金) 13:30-16:35 約60団体参加

- 1・「ゲノム編集で何ができる? 狙った遺伝子のピンポイント改変とイネ育種」  
遠藤真咲 (農研機構生物機能利用研究部門)
- 2・「いまなぜ、高タンパク質米の育種なのか?」  
山本祐司 (東京農業大学応用生物科学部農芸化学科)
- 3・「コメ品種特異的な免疫制御機能」  
安達貴弘 (東京医科歯科大学難治疾患研究所・未病制御学)
- 4・「鉄分を増強したイネ品種の開発とその応用」  
齋藤彰宏 (東京農業大学応用生物科学部農芸化学科)

3. 食・農データサイエンス勉強会第2回公開シンポジウムに(セミナー(ハイブリッド)形式で実施)  
令和2年度と同じく、食・農データサイエンス部会と共催して開催した。  
開催日:2022年11月14日 約100名参加

◆部会名:榎本・横井研究部会

◇部会長:原 珠里 連絡幹事:小形 浩道

◇令和4(2022)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、令和4年度は新型コロナウイルス感染拡大の状況が改善されなかったことや、本研究会の会員が比較的高齢であり感染リスクが高いことなどを考慮し、第51回研究会の開催を断念した。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ている。

また、本学国際センター棟の「榎本ギャラリー」という展示スペースの設置に協力した。大学史資料室で保管している榎本家所縁の品々を展示・解説したスペースとして、学祖の精神を具現化し後世に伝えていく展示内容となっている。

◆部会名:おいしさ研究部会

◇部会長:松本 信二 連絡幹事:阿久澤 さゆり

◇令和4(2022)年度 活動報告

部会長(松本信二)および学内企画委員(阿久澤、岩槻、前橋(3名共に東京農業大学教員))を運営組織とし、学外アドバイザー(山野善正:一般社団法人おいしさの科学研究所理事長)と共同運営において開催する企画の相談を行うべく、企画会議を開いた。参加者の便宜および新型コロナウイルス感染症の社会情勢を鑑み、ZOOM等を使用したオンライン視聴での講演会を下記の内容で開催することとした。

- 1. 企画の相談:2022年度の活動について、9・12月にメール会議および電話連絡を中心に意見交換を行った。
- 2. 2023年度の活動について3月にメール会議および電話連絡を中心に意見交換を行った。
- 3. 開催企画の内容

セミナー「おいさと味わい」

- 1) 開催日時(3月22日水曜13時~14時45分)
- 2) 場所:東京農業大学応用生物科学部食品安全健康学科会議室(配信元)
- 3) 参加費:会員・非会員ともに無料

- 4) ①開会の挨拶 阿久澤さゆり おいしさ研究部会事務局代表  
 ②講演 『小豆餡のおいしさと水分および糖度との関係』  
 東京農産大学生物産業学部食香粧化学科教授 中澤洋三先生  
 ③講演 『味覚 ～失って初めて大切に気づくもの～』  
 がん病態味覚研究会 河合美佐子先生  
 ④閉会の挨拶・おいしさ研究の動向 山野善正 一般社団法人おいしさの科学研究所理事長
4. 参加者 一般 43 名、運営委員 4 名

◆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 4 (2022) 年度 活動報告

令和 3 年度末に行った第 1 回シンポジウムに続き、それを発展させた内容の微生物分類学に関するシンポジウムを計画していたが、その途中で微生物分類学の第一人者で本学応生生物応用化学科教授だった駒形和男先生が令和 4 年 9 月 9 日に亡くなったことを受けて、日本微生物資源学会(大熊盛也会長)が微生物分類学に関する追悼シンポジウムを企画し、実行委員会が 11 月 29 日に発足し、本部会の企画委員の田中尚人先生が実行委員長に就任し、部会長の鈴木も講演者となった。そのため、本部会のシンポジウムと内容が重複することになったが、このシンポジウムにも本部会関係者が参加し、内容も本部会の年度計画 1 の趣旨に沿ったものであることから、部会会員にシンポジウムの案内を配信できるよう、本部会の協賛とすることを学会に要請し、学会理事会の承認を得た。その結果、主催者の学会からの配信先は研究機関に限定的であったが、農大研究部会の配信先とはほとんど重複せず、特に民間企業から多くの参加があった。シンポジウムの実施内容と、その実績は以下の通り。

「公益財団法人発酵研究所 学会・研究部会助成 駒形和男先生追悼公開シンポジウム新たな時代を拓く微生物分類学：現状と展望」

日時：2023 年 3 月 6 日 (月)

会場：東京国際フォーラム (ZOOM 配信による遠隔聴講のハイブリッドも併用)

主催：日本微生物資源学会 協賛：東京農産大学総合研究所研究会応用微生物部会

第 1 部 発酵研究所 学会・研究部会助成報告(省略)

第 2 部 日本微生物資源学会 微生物系統分類部会シンポジウム

「微生物分類学の今とこれから：駒形和男先生追悼シンポジウム」

1. 「駒形和男先生の微生物分類学におけるご業績」 鈴木健一郎 (東京農産大学)
2. 「放線菌に学ぶ -*Kitasatospora* 属及び *Patulibacter* 属との出会い-」 高橋洋子 (北里大学)
3. 「難培養微生物の実態解明と分類上の課題について」 鎌形洋一 (産業技術総合研究所)
4. 「ゲノムシーケンスのさらなる高速化・低コスト化と微生物分類への影響」 岩崎渉 (東京大学)
5. 「Polyphasic approach による *Aspergillus* 属の再分類」 矢口貴志 (千葉大学)
6. 「微生物資源と系統分類学のこれから」 大熊盛也 (理化学研究所)

登録者数 287 名(内会場参加 52 名)

農大とその OB15 名、研究会会員機関 51 名 (うち応用微生物部会 42 名)

その他の大学 102 名、研究機関 71 名、一般企業 40 名、その他 8 名

登録者の内訳から、部会の協賛は適切だったと考えられる。

昨年度の計画の実施状況

1. シンポジウムは主宰として開催できなかったが、協賛シンポジウムがそれに変わることができたと考えている。
2. 3. については実施できなかったが、次年度、若干計画を変更して実施したいと考えている。

◆部会名：環境緑化部会

◇部会長：栗野 隆 連絡幹事：田丸 敬三

◇令和 4 (2022) 年度 活動報告

1. 「リカレントスクール・造園・2022」の開催・運営 (造園 CPD 認定プログラム)  
 ※前年同様に、オンラインと対面での受講のハイブリッドでの開催を実施。
- メインテーマ：「人のつながりを軸にモノづくりの心と技を考える」  
 開催場所：グリーンアカデミー・ホール 3F 大会議室

開催時間 18時30分～20時00分

第1回 令和 4年 9月13日(火)

◎造園施工技術の伝承継承とそのネットワークとこれから

東京農業大学 地域環境科学部 造園科学科 非常勤講師

- ・緑進造園(株) 代表取締役 (昭和55造園学科卒) 齋藤 悟 氏
- ・(株)大場造園 代表取締役会長 (昭和56造園学科卒) 大場 淳一 氏
- ・(株)豊和緑地 代表取締役 (昭和60造園学科卒) 豊田 弘 氏
- ・(株)昭立造園 代表取締役 (平成13造園学科卒) 阿部 晋也 氏

第2回 令和 4年10月18日(火)

◎庭園づくり古今とそのネットワークとこれから

- ・(株)植芳造園 代表取締役会長 (昭和44造園学科卒) 井上 剛宏 氏

第3回 令和 4年11月 8日(火)

◎短編映画祭や旅行企画案内業務を通じたモノゴト具現化のためのネットワークとこれから

- ・(株)佐世映像社 代表取締役 (平成 2造園学科卒) 志岐 誠 氏
- ・フリーランスエディター (平成 2造園学科卒) 石田(島崎) 美佐子 氏

第4回 令和 4年12月20日(火)

◎アメリカにおける公園緑地や日本庭園づくりとそのネットワークとこれから

- ・Zen Associates 代表取締役 (昭和49造園学科卒) 阿部 伸一郎 氏(NY在)
- ・Kurusu International Co., Ltd. (平成12造園学科卒) 篠原 清彦 氏(ポ-トランド在)

第5回 令和 5年 1月17日(火)

◎東京農業大学造園科学科 100周年記念事業について

- ・東京農業大学 地域環境科学部 造園科学科教授 (前造園科学科長)  
(平成 4年 農修士卒) 鈴木 貢次郎 氏

※東京農業大学緑友会(全国)(主管:東京緑友会)・東京農業大学造園科学科・  
大学院造園学専攻との共催(延参加者人数459名(学生含))

2. 「東京農大 緑のフォーラム 2022」の共催(世田谷キャンパス)

令和 4年 5月21日(土)(会場は教職員・学生のみ。その他はオンラインの開催)

●MLA Award 受賞者講演

◎「TLS点群データを用いた戦災樹木に対する焼焦げの定量化手法と被災推定への応用」

古賀 大誠 氏

◎「横浜市大岡川上流域における土地被覆と雨水流出抑制を軸にしたグリーンインフラ  
形成に関する研究」

田中 亮平 氏

◎「スダジイとツブラジイの滞水耐性に関する研究」

松永 佳子 氏

●第48回造園大賞受賞者講演

◎「多年草を主体とした風景づくりを軸に自然と地域と人をつなぐ」

- ・「Gardener-詠-」代表 (平成12年農学科卒) 平工 詠子 氏

◎「福岡を起点とした九州における産官学民連携のランドスケープ教育実践」

- ・西日本短期大学 教授・緑地環境学科長 (平成 6年造園学科卒) 西川 真水 氏

※主催:東京農業大学造園科学科・大学院造園学専攻 共催:東京農業大学緑友会

3. 「緑の技術発表会「ポスターセッション2022」」の共催 中止

#### ◆部会名:きのこ研究部会

◇部会長:阿部 尚樹 連絡幹事:本間 裕人

◇令和4(2022)年度 活動報告

★ 幹事会を実施し、運営に関する審議を行った。

前部会長である江口文陽学長から部会の運営についての引き継ぎを実施し、さらに部会長と連絡幹事間で複数回会合を開いて運営方針を審議した。

★ 9月17日に『きのこ研究部会 2022年度 シンポジウム』を対面(東京農業大学 世田谷キャンパスサイエンスポート8Fエアブリッジ)とZoom配信によるハイブリッド形式で開催し、70名以上の方々にご参加頂いた。

シンポジウムテーマ

「きのこ産業の現状と研究の最前線」

13:10~14:00 特別講演 フィリピンセントラルルソン州立大学 副学長

Renato Gutierrez REYES 氏

“Recent ADVANCES ON MUSHROOM RESEARCH AND DEVELOPMENT IN THE PHILIPPINES”

14 : 00～14 : 30 講演 林野庁 特用林産対策室 室長 塚田 直子

「きのこをめぐる状況について」

14 : 30～15 : 00 講演 東京農業大学 学長 江口 文陽

「機能性食品素材としてのきのこ研究と消費拡大への挑戦」

15 : 00～15 : 20 休憩ならびに交流時間

15 : 20～15 : 50 講演 南九州大学 教授 吉本 博明

「SDGs ときのこ栽培システム ～廃菌床利用による地域循環～」

15 : 50～16 : 20 講演 東京農業大学 教授 篠原 弘亮

「きのこ細菌病の生物的防除への取り組み」

★ ポスタープレゼンテーション

コロナ禍であることを勘案し実施を見送った。

★ 研究部会への問い合わせなどを介したテレビや新聞取材の対応

テレビ番組や新聞記事への情報提供を部会長および幹事が対応し東京農業大学におけるきのこ研究について情報公開した。

◆部会名：グローバル情報研究部会

◇部会長：立岩 寿一 連絡幹事：武原 タイ、板垣 啓四郎

◇令和4（2022）年度 活動報告

1) GIA ホームページ アップデート（テキスト・画像）。詳細 [gia-nodai.com](http://gia-nodai.com)

6/4/2022 “Just Walk Out“ 武原タイ

8/3/2022 “話題の図書“ 板垣啓四郎

1/16/2023 “第1回 GIA 「グローバルに未来を思考する」出版記念の会開催さる“ 鎌塚トシ

1/26/2023 “「グローバル思考 x イノベーション」農業・関連企業イノベーション部会キックオフ  
シンポジウム“ 武原タイ（\* 第6回 GIA コラボ）

3/2/2023 “グローバルキャリアプログラム/シドニー視察報告“ 鎌塚トシ

3/4/2023 “第7回 GIA コラボ「SAM x GIA」科学的経営と農業“ 武原タイ

3/9/2023 “「バージニア工科大訪問 日本語学習 報告“ 鎌塚トシ

2) GIA コラボ 開催

第6回 GIA コラボ：農業・関連企業イノベーション部会発足記念シンポジウム

1/21/2023 @農大横井講堂、～農業のイノベーションをどう興すか～

（講演者） 江口文陽「農業 x 教育イノベーション」

前田茂雄「農業 x 加工イノベーション」

武原タイ「グローバル思考 x イノベーション」

及川智正「農業 x 起業イノベーション」

第7回 GIA コラボ：「SAM x GIA」科学的経営と農業 講演会

2/20/2023 @東京駅サピアタワー9F 産業能率大セミナールーム2

（講演者） 及川智正「ゼロから上場まで～新しい農産物流通への挑戦～」

3) GIA 出版実行委員会 書籍「グローバルに未来を思考する」上梓

4/22/2022 GIA 出版実行委員会ミーティング@町田 板垣啓四郎・長尾聡・渡邊文雄・武原タイ

7/22/2022 昨年度からの部会活動計画に従い「グローバルに未来を思考する」を農大出版より発行

1/12/2023 “出版記念の会“を執筆者と開催@グリーンアカデミーホール+懇談会@天狗 入江憲治・大西彰博・鎌塚俊徳・鈴木伸治・立岩寿一・長尾聡・藤川智紀・本間惇・藪野通夫・武原タイ

4) GIA アルコー会、リーダー会 実施

第10回 GIA アルコー会 in 函館

8/21-23/2022 榎本武揚ゆかりの地函館を訪れ五稜郭・碧血碑・北海道駒ヶ岳を歩く(+青山ひとり発祥の地と言われる湯の川温泉泊) 長尾聡・飯山レイモンド・武原タイ

第11回 GIA アルコー会 in 長野・山梨、第1回 GIA リーダー会(読書会)@八千穂

1/21/2023 長野県南牧村キャベツ館・野辺山国立天文台電波望遠鏡・佐久の農大 OB 経営レタス農家を視察し八千穂 GIA 特別ログハウス泊、岩波新書「ガルブレイス」を題材に第1回読書会を実施

1/22/2023 山梨県勝沼の葡萄畑を巡りワイン工場訪問見学 板垣征四郎・長尾聡・武原タイ

◆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4(2022)年度活動報告

昨年度に引き続き、活動を見合わせていた。新しい時代に即した昆虫機能利用の部会(名称も変更する予定)に移行する予定で準備を進めている。

◆部会名：沙漠緑化研究部会

◇部会長：豊田 裕道 連絡幹事：鈴木 伸治

◇令和4(2022)年度活動報告

【幹事会】

メール会議にて行った。

【令和3年度活動報告会および令和4年度定時総会】

令和4年7月23日、東京農業大学世田谷キャンパスにおいて、対面(1号館231教室)とオンライン(zoom)のハイブリットで開催した。

<報告会> (1) ジブチ共和国のマンガローブ

東京農業大学 国際食料情報学部 国際農業開発学科 助教 檜谷 昂

(2) *Solanum incanum* 及び *S.somalense* の土壌改良資材としての有用性

東京農業大学大学院 地域環境科学研究科 林学専攻

博士前期課程2年 加藤 康太

【講演会】

令和5年3月8日、東京農業大学世田谷キャンパスにおいて、「極乾燥地域ジブチにおける持続可能な農牧業を目指した共同研究 - Collaborative Studies for Sustainable Agropastoral of Extremely Dry Environment in Djibouti -」と題し、対面(サイエンスポート8Fエアブリッジ)とオンライン(zoom)のハイブリットで開催した。日本沙漠学会沙漠工学分科会との共催による。

<プログラム> (1) Overview of the SATREPS project studies

Sawahiko Shimada (Tokyo University of Agriculture)

(2) Discovery of Spirulina in Lake Abbe in reference to its distribution in East Africa

Ibrahim Souleiman Abdallah (University of Djibouti)

(3) The chemical composition of the Djiboutian water resources

Idil Mouhoumed Elmi (University of Djibouti)

(4) Aggroresources in Djibouti

Abdillahi Houssein Abdallah (University of Djibouti)

(5) Grazing capacity parameters collected from Ali Sabieh rangelands in Djibouti

Rikako Kimura and Akira Kurosawa (Tokyo University of Agriculture)

(6) Sustainable Agro-pastoral experimental field establishment in Douda, Djibouti

Fumio Watanabe and Atsushi Sanada (Tokyo University of Agriculture)

【地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム(SATREPS)の諸活動の支援】

本研究部会のメンバーの多くが参加している、SATREPSプロジェクト「ジブチにおける広域緑化ポテンシャル評価に基づいた発展的・持続可能水資源管理技術確立に関する研究」について、研究部会として支援を行った(主に情報提供やカウンターパート研修生受入れ支援など)。

現地研究者とリモートで情報交換を行った。

【寄稿】

東京農業大学総研研究会グローバル情報研究部会が出版する書籍「グローバルに未来を思考する - Society5.0時代の食、農、環境、エネルギー」に寄稿した。

【その他】

とくになし。

◆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4(2022)年度活動報告

1. 幹事会の開催：令和4年5月、6月、10月にオンライン&メールで開催した。

2. 東京農大と包括連携協定を締結している(株)パスコと産学連携組織「次世代農業サポート研究会」の設立と設立シンポジウムの開催(参加者100名)。

日時2022年7月22日(金) 13:00~16:50

総会・シンポジウム：オンライン開催

「有機農業に向けたコンソーシアムの実現を目指して」岩佐哲司 JAぎふ組合長

「日本農業のこれからと農協の役割」末松広行農大特命教授(前農林水産事務次官)

- 「宇宙から見えるもの」 島村秀樹（株）パスコ社長
3. 次世代農業サポート研究会 実践研修会の開催（参加者 8 名）  
 開催日時：2022 年 11 月 18 日（金） 13 時半～16 時  
 テーマ：「半農でお金を稼ぐ～「菜園起業」とはなにか？」  
 講師：株式会社菜園クラブ 代表取締役 増山 博康 氏  
 主催：東京農業大学 GIS 研究部会次世代農業サポート研究会・農大サポート  
 共催：（株）パスコ・全国共同出版
  4. 事業承継フォーラムの開催（参加者 30 名）  
 開催日時：2023 年 1 月 18 日（水） 18 時～20 時（開場 17 時半）  
 会場：AgVenture Lab（アグベンチャーラボ）  
 主催：有限会社たけもと農場  
 共催：一般社団法人家の光協会、東京農業大学総合研究所 GIS 研究部部会
  5. 次世代農業サポート研究会 スマート農業研修会の開催（参加者 10 名）  
 開催日時：2022 年 12 月 20 日（火） 13：30～16：30  
 ・農研機構が運営する「WAGR I」の紹介 13:30～15:00  
 講師：農研機構WAGR I 推進室 二宮 芳継 氏  
 ・目標地図作成のためのポリゴンと台帳マッチング研修 15:00～16:30  
 講師：（株）パスコ経営戦略本部事業戦略室 河野 誠忠 氏  
 主催：東京農業大学 GIS 研究部会  
 会場：東京農業大学 世田谷代田キャンパス
  6. 有機農業コンソーシアムワークショップの開催打ち合わせ（JA ぎふ：2022 年 12 月 4 日）  
**【講師】**  
 下嶋聖（東京農業大学地域環境科学部地域創成科学科）  
 矢野加奈子（合同会社流域共創研究所だんどり/東京農業大学非常勤講師）  
 鈴木充夫（前東京農業大学教授）  
**【目的】**  
 有機農業コンソーシアムの設立に合わせ、生産者、消費者、関連団体の有機農業普及に向け、DX の活用、有機農業の印象、課題、普及のためにどのような WS が必要なのを話あった。
  7. 農大メソッド研修 JA さが GIS 地図作成研修（2023 年 3 月 1 日、2 日、参加者学生 4 名）  
 場所：東京農業大学地域創成学科計算室  
 講師：河野誠忠、下嶋聖、鈴木充夫

#### ◆部会名：芝草部会

- ◇部会長：高橋 新平 連絡幹事：大橋 邦雄
- ◇令和 4（2022）年度 活動報告
  - ・令和 4 年度 現地コース視察（東京農業大学グリーン研究会共同開催）参加者 27 名  
 日時：令和 4 年 8 月 30 日（火） 8：00～  
 場所：袖ヶ浦カンツリークラブ 袖ヶ浦コース  
 内容：①東京農業大学グリーン研究会会員、総合研究所芝草部会会員によるコース視察  
       ②会員各個人による視察所見・意見交換会（同クラブハウス内にて）
  - ・令和 4 年度 第 89 会夏期研究会（現地開催）  
 （東京農業大学グリーン研究会合同開催）参加者 28 名  
 日時：令和 4 年 8 月 30 日（火） 14：30～  
 場所：袖ヶ浦カンツリークラブ 袖ヶ浦コース  
 内容：①『コースに花を』講師 東京農業大学客員教授（社団）日本パブリックゴルフ協会理事濱野周泰先生

#### ◆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 4（2022）年度 活動報告  
 以下のように、研究部会独自の活動と、農学部で開講している「農業インターンシップ（一）」と「農業インターンシップ（二）」に関係する活動を実施する計画でしたが、新型コロナウイルスの影響で、計画していた活動の一部を、やむなく中止した。  
 <幹事会>

随時、必要に応じて、メールなどのオンライン形式で実施した。

＜農業応援ツアー・農業体験・農家実習の受入先実地調査＞

夏休みに、研究部会の教員による、現地調査を予定していたが、新型コロナウイルス感染拡大によって中止した。

＜第16回新規就農推進フォーラム＞

夏休みから、後学期にかけての、新型コロナウイルス感染拡大により、開催を見合わせた。

＜農業応援ツアー・農業体験＞

①農業応援ツアー in 福島県北塩原村は、夏休みの新型コロナウイルス感染拡大によって中止した。

②農業体験 in 高知県も、夏休みの新型コロナウイルス感染拡大によって中止した。

＜農業インターンシップ（一）の実施＞

毎週木曜日 16:20～17:50 に 1103 教室で実施。15 回の講義の「学習内容」は、例年通り、日本農業の現状、および、夏休みの「農家実習」先決定の為の情報公開を中心とした。

さらに、3 年ぶりに、夏休みの期間中に、農業インターンシップ（一）履修学生 68 名、ならびに、昨年度、一昨年度の農業インターンシップ（一）履修学生のうちの希望者 4 名に対し、「農家実習」を実施しました。うち、8 名の実習先は、夏休み直前からの新型コロナウイルス感染拡大により受入中止となり、残りの 64 名は、22 カ所の実習先で実習を実施した。

＜農業インターンシップ（二）の実施＞

毎週木曜日 16:20～17:50 に 1103 教室で実施。15 回の講義の「学習内容」は、夏休みの「農家実習」報告など、アクティブラーニングを主体とした。

なお、後学期定期試験後、農業関連産業の見学会として、農協関係で、「JA 全農 営農技術センター」と「JA あつぎ 夢未市」、流通関係で「大田市場」、農業試験場関係で「神奈川県農業技術センター」、農業関連の民間企業として「北興化学工業（株）開発研究所」を予定していたが、新型コロナウイルス感染拡大防止の点から、受け入れ先と協議の結果、中止とした。

＜日本農業労災学会 第9回大会（第9回シンポジウム）の共催＞

2022 年 10 月 21 日（金）13:00～16:30 に、上記の大会を、労災対策研究部会、農業協同組合研究部会と共催して、ハイブリッド開催（東京農業大学世田谷キャンパス横井講堂+Zoom によるオンライン参加）した。

#### ◆部会名：醸造食品部会

◇部会長：舘 博 連絡幹事：穂坂 賢

◇令和 4（2022）年度 活動報告

##### 1. 部会総会の開催

令和 4 年 6 月 24 日（金）第 12 回総会をオンラインにて開催、参加会員は 15 名であった。

##### 2. 講演会の開催

第 13 回 講演会を行った、開催概要は以下のとおり。

講演内容：「卸売業における商品開発 ～新たな市場を創出する～」

講演者：国分本社株式会社 マーケティング・商品統括部商品開発部 部長 織田啓介氏

開催日：令和 4 年 6 月 24 日（金）、13:20～14:30

開催形式：農大サイエンスポート エアブリッジでの対面および ZOOM 同時配信

参加者：オンライン 68 名、対面（主に東京農大醸造学科学生）149 名、計 217 名

##### 3. 研修会（工場見学会）の開催

第 13 回 オンライン研修会（工場見学会）を開催した。開催概要は以下のとおり。

見学先：坂元醸造 株式会社（鹿児島県霧島市福山町）

開催日：令和 4 年 11 月 4 日（金）、15:00～16:00

開催形式：ZOOM でのオンライン見学会

参加者：42 名

##### 4. 幹事会の開催

オンラインによる幹事会を 2 回開催した。

1) 令和 4 年度第 1 回幹事会（第 31 回） 令和 4 年 4 月 22 日（金）、15:00～

出席者；舘 博 部会長、穂坂 賢 連絡幹事、茂木浩介（学外）、小島 賢（学外）、塚田 孝（学外）、前橋健二（学内）石川森夫（学内）、大西章博（学内） 以上 8 名

2) 令和 4 年度第 2 回幹事会（第 32 回） 令和 5 年 3 月 22 日（水）、15:00～、

出席者；舘 博 部会長、穂坂 賢 連絡幹事、茂木浩介（学外）、小島 賢（学外）、塚田 孝（学外）、八木聖史（学外、オブザーバー参加）、門倉利守（学内）、前橋健二（学内）石川森夫（学内） 以上

9名

#### 5. 親睦会の開催

親睦会については、コロナ感染拡大に伴い開催を見送った。

#### 6. その他

1) 次年度の工場見学会の候補として三和酒類株式会社（9月実施で調整中）と嘉美心酒造株式会社（岡山県浅口市；要請中）で準備検討中。

2) エバラ食品工業 小島 賢氏からエバラ食品工業 八木聖史氏に交代することが承認され、小島氏については次年度、幹事会等オブザーバー参加して頂くことが承認された。

3) 次年度連絡担当幹事を穂坂先生から石川に変更することが承認された。

#### ◆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4（2022）年度 活動報告

令和4年度のスタートに当たり、依然コロナ感染の不安と会員の高齢化も含め状況を注視して下記の勉強会を開催しました。

①5月27日 総会記念講演「大丈夫か？日本の食～ロシアのウクライナ侵攻に想う～」

講師：中村 靖彦（寺小屋塾長）

会場：日本記者クラブ内会議室

参加人数：40名

②11月30日 「冷凍食品をおいしく食べる時代へ～急速冷凍技術～」

講師：津田谷 英樹氏（㈱テクニカン 広報課長）

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：18名

③令和5年1月17日 「健康な白寿を迎えるために」

講師：新井 康通氏（慶応義塾大学 白寿総合研究センター長）

会場：日本記者クラブ大会議室

参加人数：25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4（2022）年度 活動報告

##### 1. 幹事会の開催

・令和4年6月16日

令和3年度活動報告および令和4年度企画案の検討

・令和4年7月14日

研究会開催案の検討

・令和4年10月6日

研究会開催に関する事前情報収集の実施状況の検討

・令和5年2月27日

令和4年度活動報告案および令和5年度活動計画案の検討

##### 2. 活動報告

###### (1) 当初計画

①研究会開催にかかわる事前情報収集

目的：「みどりの食料システム戦略」に関する意義と全国展開に関する情報収集

②研究会の開催

目的：農林水産省は2021年5月に「みどりの食料システム戦略」を策定し、2050年までに農業の生産性を向上させながら、より積極的に環境保全型の技術を取り入れることを目指すことにした。そこで、この戦略において環境工学がどのような役割を果たすことができるかについて研究会を開催して検討する。

テーマ：「みどりの食料システム戦略」における環境工学の役割（仮題）

###### (2) 結果

①研究会開催にかかわる事前情報収集

・実施日

令和5年4月5日



農林水産省農村振興局での聞き取り調査  
令和5年1月13日  
埼玉県および葛西用水路土地改良区での聞き取り調査  
令和5年3月16日  
関東農政局での聞き取り調査

・調査結果

みどりの食料システム戦略における環境工学の役割については、温室効果ガス排出削減のための水田の中干し延長対策、農業用水路の熱エネルギーを利用する省エネ・低炭素化対策、農業生産と洪水被害を両立できる田んぼダム対策、水害の危険性を予測し被災情報を共有するため池防災支援システムの構築、ICTを活用した水田水管理システムの構築、バイオ炭等を用いた農地への炭素貯留技術の構築、農業用水の小水力発電の拡大などが確認できた。

②研究会の開催

みどりの食料システム戦略における環境工学の役割について事前に情報収集を行った結果、研究成果を体系化して全国展開するまでには至っていないことが判明したため、今後の全国展開の推移を見極めつつ研究会の開催は次年度以降に見送ることにした。

③その他

グローバル情報研究部会から「グローバルに未来を思考する—Society5.0時代の食、農、環境、エネルギー—」を出版する計画において、当部会に原稿の執筆依頼があり、「生産基盤整備からみた農業と環境のこれから」について、当部会連絡幹事の藤川智紀教授を筆頭者として執筆協力を行い、同書は令和4年7月に農大出版会から出版された。

◆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、田村 倫子、煙山 紀子

◇令和4（2022）年度 活動報告

【年間イベント】

（1）第5回シンポジウムの開催

開催日時：2022年11月30日（水）13時から

開催方式：YouTubeによるオンライン開催、FSRCとの共催

参加費：無料（事前登録必須）

概要：食品安全の最新動向と抱える課題の解決に向けて

食の安全と安心部会では、年に一度食の安全に関するシンポジウムを開催している。2022年度は第5回シンポジウムを、2022年4月より発足した学校法人東京農業大学食品安全健康センター（FSRC）との共催で開催した。シンポジウムの第一部では、改正食品衛生法施行後の食品のリスクマネジメントの現状について報告した。第二部では、食品安全の抱える最近のトピックスとして、ゲノム編集食品の安全性、東日本大震災後10年の放射線汚染土壌の食品への影響に関する内容を取り上げ、「食の安全」について議論を行った。

一般参加登録者 699名、視聴回数 1059、同時視聴者数 最大 411、平均 336、

学生 農芸化学科 160名、栄養科学科 240名、食品安全健康学科 160名

計 約 1260名が参加した。

【会議】

（1）部会運営会議

7回開催し、令和3年度の活動方針と第4回シンポジウムの開催とその内容を総括した。

4月15日・・・本年度の活動方針の確認

6月9日・・・シンポジウム開催を検討

7月6日・・・シンポジウム開催方法とプログラムの検討

8月1日・・・シンポジウム開催方法と演者の検討

9月6日・・・シンポジウム開催方法と広報の検討

10月18日・・・シンポジウム開催方法の実際の確認

11月16日・・・シンポジウム開催最終確認、事前準備

【その他】

（1）部会会員の獲得

部会の会員増を図るための母体の検討および呼びかけを積極的に行なった。

◆部会名：食・農データサイエンス部会

◇部会長：金谷 重彦 連絡幹事：辻井 良政、瀧川 義澄

◇令和4（2022）年度 活動報告

1. 食・農データサイエンス勉強会（ウェビナー配信で実施）

部会単独の活動として、実データを用いた食・農データサイエンス勉強会を実施した。

スケジュールが合わず勉強会に参加できない会員のため、録画は YouTube で限定公開した。

第1回 2022年7月28日テーマ「Rとは。プログラミングの基礎。」 約30名参加

第2回 2022年9月28日テーマ「教師なし機械学習。ヨーグルトのデータを用いたPCA解析。」  
約30名参加

第3回 2023年1月19日テーマ「食品データ分析の統計管理」 約30名参加

※勉強会の内容をより理解するための「寺子屋」も実施（3回）

2. 第2回公開シンポジウム(セミナー（ハイブリッド）形式で実施)

令和3年度と同じく、稲・コメ・お米部会と共催して開催した。

開催日：2022年11月14日 約100名参加

プログラム

1.食・農データサイエンスことはじめ いまなぜ R!

2.結果をみながら理解しよう～プログラミングでこんなこともできる・わかる～

2.1 話題 1. 官能試験で活用： Three Way Component Analysis

2.2 話題 2. 食品分析データの精度を考える：統計学的精度管理

2.3 話題 3. お米の成分と呈味官能評価の関係モデルの構築：回帰モデル

2.4 課題 4. 広域ドローン撮影からの反射スペクトル値（非破壊）による、茶葉の化学成分推定の検討

※第2回公開シンポジウムの録画は総研研究会ウェブページにて公開した。

3. 特別活動補助事業：『Rを活用した食・農データサイエンス実践講座』

本事業は、公開シンポジウムと同じく、稲・コメ・お米部会と共催して開催した。

開催日：2022年11月17・18日 約66名参加

プログラム

～Rを活用した解析プログラムの基礎から適用事例まで～

1. 食農データサイエンスとは

2. R プログラミング基礎

3. 統計検定: 連続分布による統計学実習 : 離散分布による統計学

4. 多変量データの視覚化: PCA、Three Way Component Analysis、視覚化法

5. 食品分析と統計学: 外れ値の理解 など

6. 食品栄養成分表からのマイニング: 機械学習

7. お米の機械学習

8. 棒茶の R 解析

※実践講座の録画ビデオは、YouTube で部会員限定公開した。

4. 書籍や学会等による食・農データサイエンスの有用性紹介と部会紹介

書籍発行 実践 食農データサイエンス:Rを活用した解析プログラムの基礎から適用事例まで(2022年9月)

日本食品化学学会誌 29 巻 3 号 (2022 年 12 月) に資料として事例紹介を投稿した。

ニューズレター『DSCFA Letter』No.1(2023年3月)の発行を実施した。

第5回日本食品衛生学会近畿地区勉強会(2023年2月)にて講演と部会紹介を行った。

5. 部会状況

会長1名、副会長1名、幹事(企画担当)6名、連絡幹事2名

会員51名(うち個人会員21名、法人会員11機関) ※2023年3月現在

◆部会名：植物工場研究部会

◇部会長：山中 宏夫 連絡幹事：小野瀬 淳一

◇令和4（2022）年度 活動報告

・植物工場(温室型、閉鎖型)、アグリビジネス最新動向などを会員向けに情報提供。  
(書籍、資料購入) (個別面談は未実施)

・植物工場見学会実施(東京都中央区銀座 銀座伊東屋 Farm)

第1回 2022年11月29日15時～16時 12名参加

第2回 2023年1月23日14時30分～15時30分 8名参加  
・総研フォーラム開催協力

◆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4(2022)年度 活動報告

1. 総会の開催

会議日程の調整および新型コロナウイルスの影響をうけて、対面で実施せずメールでの報告と確認を行った(2023年1月12日)

2. 活動報告

1) サイエンスポートの階段材に関連するリーフレットについて、関連企業への聞き取り、資料の確認をしたうえで、約3,000部の印刷をおこなった。作成したリーフレットは各部署に配布した。

2) 森林文化に関する資料作成、共同セミナーの開催など。

○ 木祖村の箸についての調査を、教育後援会会長、幹事長に同行していただき、上松町、木祖村、飯田市でおこなった。トレーサビリティや加工の仕方が変化していることがわかり、新たな資料作成を計画した。

○ 資料については、森林文化論をはじめ学生や受験生への説明と配布を行った。セミナーなどは実施しなかった。

3) 森林文化に関連する学会報告を行う。

○ 関東森林学会で報告(2022年10月25日)

サイエンスポートのログベンチについて報告；佐藤孝吉(2022)東京農業大学奥多摩演習林における間伐材のログベンチ利用

◆部会名：生物的防除部会

◇部会長：河津 圭 連絡幹事：足達 太郎

◇令和4(2022)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3回開催

第1回(2022/6/21)

演題1 「BT剤の殺虫活性変動に関する研究(寄主植物-BT剤-害虫の3者系)」

諫山真二氏(住友化学)

演題2 「天敵利用の果樹ハダニ防除(W天敵)」

外山晶敏氏(農研機構 植防研-果樹茶)

演題3 「グローバルGAPについて」

今瀧博文氏(アグロ カネショウ)

第2回(2022/11/8)

演題1 「タケ由来ミミズ堆肥の植物病害への発病抑制効果とその要因」

東條元昭氏(大阪公立大学農学研究科)

演題2 「昆虫病原性微生物の感染機構と化学農薬との相乗効果」

神谷克巳氏(岐阜県病害虫防除所)

演題3 「生産現場から考える生物的防除~100年後の当たり前を目指して~」

畠山修一氏(フリーランスの普及指導員(元埼玉県農林部所属))

演題4 「石原産業の生物農薬開発の取り組み」

森光太郎氏(石原産業(株)中央研究所 生物科学研究室 生物・開発グループ)

第3回(2023/2/7)

演題1 「岐阜県における化学農薬削減に対する取り組み」

杖田浩二氏(岐阜県農業技術センター)

演題2 「ナシ害虫の防除、主に株元草生によるハダニ類防除について」

中井善太氏(千葉県農林水産部 山武農業事務所)

演題3 「BT剤(Bacillusthuringiensis)の家庭園芸への応用」

勝本俊行氏(住友化学園芸(株) 研究開発部 製品開発センター)

② 生物的防除部会ニュース発行

76号、77号、78号 PDFを送付、またはHP上で公開 希望者には印刷物を郵送(約20件)

③ ホームページの管理運営：ニュースレターのバックナンバーをホームページに掲載

[http://www.ipm-bio.jp/bukai\\_news.html](http://www.ipm-bio.jp/bukai_news.html)

II情報収集および交流事業 学会・研究会へ参加して情報収集および交流

III会議

①通常幹事会: webにて実施(6/7、10/25、2/7)

講演会の演者選定、会則の改定など

②総会: web 検討、承認(6/30 回答締切)

1) 2021 年度事業報告および会計報告、監査報告

2) 2022 年度事業計画案および予算案

3) 会則改正について

#### ◆部会名：生命科学部

◇部会長：角谷 直人 連絡幹事：太治 輝昭

◇令和 4 (2022) 年度 活動報告

・幹事会開催：年 1 回

第 1 回幹事会

日時：2022 年 11 月 28 日(月)

・講演会開催

講演内容：アブラナ科作物の核・オルガネラ遺伝子のゲノム編集による変異導入

講師：玉川大学農学部生産農学科 肥塚信也 博士

日時：2022 年 12 月 15 日(木) 16:30~18:00

場所：東京農業大学・世田谷キャンパス 1 号館 244 教室

参加者：本年度は世田谷キャンパスで通常開催することができ 100 名が参加した。

厚木キャンパスからはオンラインで 5 名が参加した。

今回講演をお願いした肥塚先生は長年にわたってアブラナ科作物を使っての研究に取り組んでおり、最近ではアブラナ科作物の核ゲノムの編集だけでなく、オルガネラゲノムの編集にも成功している。今回の講演ではこれらの研究へのグループでの取り組みの経緯や今後の研究の見通しについて講演していただいた。

大変分かりやすく楽しい講演でしたので講演後には学生からの質問が相次いだ。

#### ◆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 4 (2022) 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

2022 年度は、講演会の開催を予定していたが、コロナの感染拡大が収まるまで対面式での開催は次年度以降に延期することとした。

3. 大学所有遺伝資源保全・利用活動

宮古亜熱帯農場と連携・協力してタロイモ遺伝資源 200 点およびヤマイモ遺伝資源 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。

#### ◆部会名：地域再生研究部会

◇部会長：宮林 茂幸 連絡幹事：栗田 和弥、柴田 和也、町田 怜子

◇令和 4 (2022) 年度 活動報告

1. 令和 4 (2022) 年度 活動報告

令和 4 年度は、コロナ禍において現地での活動が中止となったが、地域再生研究部会の成果である吉沢八景ガイドマップ更新した。

2. 幹事会

2022 年 10 月 24 日にアフターコロナを見据えたワークショップ再開に向けた審議を対面・オンラインのハイブリット型で行った。(会場：東京農業大学地域創成科学科会議室)

3. シンポジウムの共同開催

東京農業大学総合研究所地域再生研究部会、地域デザイン学会、国際バイオビジネス研究部会が共催となり、「農のあるマルシェのしあわせ探求力」シンポジウムを 2023 年 2 月 25 日に開催した。

このフォーラムでは、農のあるマルシェにおいて、どのようなウェルビーイング（経済活動・生きがい・人との出会い）を追い求める活動が行われているか、その成立過程や条件にフォーカスし、持続的なマルシェのあり方と地域再生、地域づくりへの展開を議論した。

【開催日時】2023年2月25日（土） 14:00～16:30

【開催形式】東京農業大学サイエンスポート8階 Air Bridge での対面型シンポジウム（要事前登録・自由参加）

【スケジュール】

14:00～14:05 開会の挨拶

東京農業大学地域創成科学科教授 町田怜子

14:05～14:15 座長解題

明治大学商学部 教授 菊池一夫

14:15～14:40 報告1「都会でのマルシェの企画・運営」

株式会社 AgriInnovationDesign 代表 脇坂真吏氏

14:40～15:05 報告2「地方の小規模マルシェ〈複数のなりわいをもつ農的暮らしとの連携〉」

暮らしかた研究所 鳥頭のおやま 所長 杉本野菊氏

15:05～15:30 報告3「都会での大学によるマルシェ」

農大アンテナショップ「農」の蔵 マネージャー杉野卓也氏

15:30～15:45 休憩

15:45～16:25 総合討論「農のあるマルシェへの参加によるしあわせの探求」

パネリスト 脇坂真吏氏、杉本野菊氏、杉野卓也氏

コーディネータ 菊池一夫

16:25～16:30 閉会の挨拶

農研機構農村工学研究部門資源利用研究領域 上級研究員 唐崎卓也

企画運営：地域デザイン学会農業文化フォーラム

共催：東京農業大学総合研究所研究会 地域再生研究部会共催、シンポジウム事務局町田怜子

#### ◆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4（2022）年度 活動報告

茨城県および阿見町との連携事業報告会を開催した。詳細は下記の通りである。

日時：令和5年3月30日（木）13時～15時

場所：東京農業大学横井講堂

プログラム：

13:00-13:05 開会の辞 水庭 千鶴子 部会長

13:05-13:20 挨拶 大澤 貫寿 名誉会長

13:20-13:50 報告①『茨城県農業経営士協会との実習協定とフィールド研修』

東京農業大学国際食料情報学部食料環境経済学科 野口 敬夫 准教授

13:50-14:20 報告②『県立高校への出張講座と阿見町産ヤーコンを使った新メニューの開発』

東京農業大学応用生物科学部栄養科学科 秋山 聡子 准教授

14:20-14:50 報告③『阿見町ふれあいの森及び君島地区竹林再生の地域づくり』

東京農業大学地域環境科学部地域創成科学科 入江 彰昭 教授

14:50-15:00 質疑応答

15:00 閉会の辞 秋山 聡子 連絡幹事

報告会には、茨城県職員、阿見町役場職員、学内関係者（学生を含む）にご出席いただいた。

#### ◆部会名：農業・関連企業のイノベーション部会

◇部会長：堀田 和彦 連絡幹事：及川 智正

◇令和4（2022）年度 活動報告

1. 農業・関連企業のイノベーション部会の設立

承認日：令和4年7月8日

内容：東京農大経営者会議を母体とし、「農業・関連企業のイノベーション部会」を設立

目的：

新たな産学連携活動を積極的に推進し、農業界にイノベーションを起こす。大学や研究機関が開発した学術的知見や技術手法を、民間企業が実務へ活用できる仕組みを構築して行く。また、企業経営者

が中心となり、ビジネスで得た知識や経験を、大学の教育や研究に活かせるようにセミナーやフォーラムを開催し、次世代への情報発信も進めて行く。

## 2. 発足シンポジウムの開催

東京農業大学総合研究所研究会 農業・関連企業のイノベーション部会

発足記念シンポジウム～農業のイノベーションをどう興すか？～

日時：令和5年1月20日金曜日

場所：東京農業大学アカデミーセンター 地下1階 横井講堂

共催：東京農大経営者会議、グローバル情報研究部会

講演者：江口 文陽 東京農業大学 学長

農業×教育イノベーション

前田 茂雄 前田農産食品株式会社 代表取締役社長

農業×加工イノベーション

武原 タイ グローバル情報研究会

グローバル思考×イノベーション

及川 智正 株式会社農業総合研究所 代表取締役会長 CEO

起業×イノベーション

参加：社会人一般70名、学生200名

内容：

発足記念シンポジウムを開催した。東農大経営者会議を中心に、たくさんの一般社会人や学生の方々に参加して頂いた。パネルディスカッションでは、活発な意見交換及び議論ができたと感じた。引き続き、リアル及びWEBにて、農業界をリードする方々との情報交換や大学、学生とのマッチングを進めていきたいと考えている。また、シンポジウムの共催として、グローバル情報研究部会から武原タイ氏をお招きし、講演を依頼した。

### ◆部会名：農業協同組合研究部会

◇部会長：白石 正彦 連絡幹事：堀部 篤

◇令和4(2022)年度活動報告

1. 幹事会・シンポ実行委員会：2022年5月、6月、10月に開催。

2-1. 第15回シンポジウムの開催：2022年11月11日(金)13:00～17:00まで東京農業大学世田谷キャンパス1号館4階441教室+オンライン(zoom)のハイブリット形式で、「農協活動において組合員・住民の「農的価値への共感力」の源泉と事業活動成果の好循環メカニズムをいかに進化させるか」をテーマに、総研研究会農業協同組合研究部会の主催で開催した。

第1報告：農協活動において、「農的価値への共感力」をふまえた“多様な農業経営力”、“組合員組織力”、“事業経営機能発揮力”の新総合力発揮を展望

報告者：白石正彦(本学名誉教授、総研農業協同組合研究部会長)・野口敬夫(本学准教授・日本協同組合学会常任理事)・菊地哲夫(本学前教授・総研農業協同組合研究部幹事)・高梨子文恵(本学准教授)・原温久(本学准教授)・望月洋孝(本学准教授)

第2報告：多様な農業者と農的暮らしを求める都市民の「農的価値への共感力—秦野市農協における自治体と連携した教育研修・広報の取り組みから—

報告者：代表理事組合長 宮永均(神奈川県秦野市農協)

第3報告：ブランド農産品産地における多様な農家・農業法人への農協による支援～水郷つくば農協による「農的価値への共感力」をふまえたネットワーク型マネジメントの取り組みから～

報告者：代表理事組合長 池田正(茨城県水郷つくば農協)

コメント：谷口信和(東京大学名誉教授)、小林元(日本協同組合連携機構(JCA)部長)、堀部篤(東京農業大学教授・農業協同組合研究部会連絡幹事)が担当し、全体討論では活発な論議を深め成果を上げた。

結論として、農業協同組合研究部会では、第1報告、第2報告、第3報告を中心に農協の戦略的役割発揮の理論と実践方策等の論議を深めることに貢献した。

2-2. 日本農業労災学会・東京農業大学総研研究会農業協同組合研究部会など3研究部会の主催でシンポジウム(テーマ：「農業労災補償制度を拡充し、農作業事故防止に資するためには何が必要か—社労士と農協・行政等関係機関との連携を考える—」)を2022年10月21日(金)13:00～16:30まで、会場：東京農業大学世田谷キャンパス横井講堂+Zoomによるオンラインで開催した。

座長は瀬川徳子(社会保険労務士法人たんぼぼ会)、白石正彦(東京農業大学名誉教授・農協研究部会長)が担当し、第1報告は、「特別加入制度の拡充と農作業従事者の特別加入」田中建一(東洋大学

講師)、第2報告は、「農林水産省における農作業安全対策の取り組み」田中康嗣(農林水産省 農産局技術普及課課長補佐)、第3報告:「建設業の労災補償対策における社労士の役割と課題」矢島友幸(矢島社会保険労務士事務所所長)、第4報告:農業労災防止への「社労士からの講演(説明)事例」紹介」堀内政徳(堀内社会保険労務士事務所所長)、第5報告:「農協現場における農作業事故防止・労災補償対策への取り組み」、桐原章(鹿児島県農協中央会営農サポートセンター主幹)。

コメンテーターは、佐藤広大(全国農協共済連課長)、紺野香月(ふくしま未来農協)、中村雅和(いのしし社会保険労務士事務所所長)、森崎めぐみ(全国芸能事業者労災保険理事長・日本芸能従事者協会代表理事)が担当し、全体討論で論議を深めた。

以上のように、農業協同組合研究部会では、シンポの企画段階から参画し、シンポの座長を担当した。

#### ◆部会名:農業生産工程管理(GAP)研究部会

◇部会長:入江 憲治 連絡幹事:齋藤 修平

◇令和4(2022)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

2022年度は、講演会の開催を予定していたが、コロナの感染拡大が収まるまで対面式での開催は次年度以降に延期することとした。

##### 3. 勉強会の開催

適宜GAPの勉強会を実施した。

#### ◆部会名:農村計画研究部会

◇部会長:宮林 茂幸 連絡幹事:入江 彰昭、栗田 和弥

◇令和4(2022)年度 活動報告

◎ 活動内容:コロナ禍もあって計画を大幅に変更した

2022年度は、川場村のかわば森と未来協議会との協力による下記のフォーラムを実施した。

2023年1月21日(土)に川場村で開催された「みんなで話そう 森と里山と街との新しいつながりーそこにはどんな未来があるの?ー」と共同して、コロナ禍や物価高の厳しい社会情勢の中で、新たな地域づくりの方向について、コト消費社会において村と里山と都市のコトづくり参加という新たな連携を目指して、議論するフォーラムに協力するとともに、部会長の宮林が基調講演とコーディネーターを務めた。本フォーラムに農大学生も参加した。

フォーラムの趣旨は次のようになっている。

「ちょっと昔まで、人は森と里山と繋がる暮らしをしていました。薪・炭などのエネルギーや、建材などの材料、木の実やキノコ・山菜などの食料を里山からいただき、同時に多様な生き物との共生を続けてきました。しかし、人の生活の変化や少子高齢化による農林業の衰退は、里山を危機に追い込み 明るい雑木林は暗い森になり、長年耕された農地も雑草に覆われ集落の活力が落ちてしまいました。でも近年、森や里山がある山村地域に向けた社会の眼差しがちょっと変わってきたような気がしませんか?地球規模の環境問題は私たちの足元にあり、またコロナ禍でライフスタイルも見直され、働き方改革など健やかな暮らしが求められています。これからの時代、健康、福祉、観光、教育、娯楽など様々な視点から利根沼田地域ならではの森と里山と人の暮らしの新しいつながりを、一緒に考えてみませんか」

日時:2023年 1月21日(土):13:30-17:00

場所:群馬県川場村文化会館

参加者:約80名

主催者・共同者:川場村かわば森と未来協議会・東京農業大学総研研究会農村計画研究部会

◎監事連絡会:2回程度(コロナ禍ということもあって全員参加とはなっていない)

#### ◆部会名:農業部会

◇部会長:本山 直樹 連絡幹事:薮田 五郎、松島 芳隆

◇令和4(2022)年度 活動報告

(1)会員数: 法人会員 22社 個人会員 2名

(2)会議

総会:令和4年5月20日 オンライン会議 参加者 55名

幹事会:第141回(令和4年05月20日)オンライン会議

- 第142回（令和4年07月20日）オンライン会議
- 第143回（令和4年09月16日）オンライン会議
- 第144回（令和4年11月18日）オンライン会議
- 第145回（令和5年03月17日）オンライン会議

新年顔合わせの会

令和5年01月27日）オンライン会議 参加者 50名

部会セミナー

第123回セミナー（令和04年7月22日）参加者 83名

新規殺菌剤ピジフルメトフェン（ミラビス®フロアブル）の生物活性とその特徴

谷口 しづく氏（シンジェンタジャパン（株）研究開発本部）

有機JAS資材の評価方法と現状—土壌肥料科学の立場から

吉羽 雅昭氏（有機JAS資材評価協議会判定委員長、東京農業大学名誉教授）

第124回セミナー（令和04年09月16日）参加者 95名

新規殺菌剤キノプロール®(ミギワ®)の生物活性

栗原 頼人氏（日本曹達（株）研究開発本部 小田原研究所）

生物農薬の開発動向—国内外における生物農薬の定義・位置づけ—

梅津 憲治氏（吉備国際大学）

第125回セミナー（令和04年09月16日）参加者 75名

最近のフッ素系農薬の紹介

平井 憲次氏（公益財団法人 相模中央研究所）

含フッ素ピラゾール系殺虫剤の探索研究

小林 修氏（公益財団法人 相模中央研究所）

U.S.Organic Production and Regulatory Framework

Maria Rakhovskaya 【米国大使館 農務部 農務官】

第126回セミナー（令和05年03月17日）参加者 72名

都道府県レベルでの化学農薬使用量（リスク換算）の試算

—「みどりの食料システム戦略」への対応として—

猫塚 修一氏（岩手県農業研究センター 上席専門研究員）

中国大豆産業における発展及び傾向

王 紹東氏（中国東北農業大学大学院農学研究科 教授）

特別講演 総会 「私の生きてきた時代と農薬ならびに農薬科学の進歩」

講演者： 山本 出氏（東京農業大学名誉教授）

新年顔合わせの会「農薬学会の現状と将来ならびに最近の昆虫成長制御剤研究」

講演者： 塩月 孝博氏（日本農薬学会長・島根大学教授）

◆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4（2022）年度 活動報告

1. 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、Panasonic Cooking @Lab 炊飯部による協力体制など支援を受けた。
- ・ ブレンド米第3弾は開発を継続中

②非常食開発：猪俣徳一商店と共同開発と無印良品でのプロモーション活動

- ・ 世田谷の地場野菜「大蔵大根」と福島県会津産コシヒカリを使用した非常食を開発した。
- ・ 試作品を無印良品自由ヶ丘店（東京都）と郡山桑野店（福島県）でプロモーション活動を実施した。

③リキュールの開発：五ノ井酒店、大和川酒造との共同開発。

- ・ 日本酒と福島県産果樹の果汁を使用したリキュール開発への参加。
- ・ 近日発売予定

④福島復興イベントへの参加

- ・ 2022年8月19日(金)・20日(土)に、竹原肉店、五ノ井酒店と共同で、2022年第4回下町上野



ふるさと盆踊り大会 with『発見！ふくしま夏まつり』に出店し、馬肉焼きと会津の日本酒を販売した。(8月19日は前夜祭)

◆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4(2022)年度 活動報告

【幹事会】

7月14日に開催した。

【講演会】

◆テーマ◆

醸造・発酵の科学Ⅱ ～食に関わる 細菌・カビ・酵母～

◆日時◆

2023年3月13日(月)14:00～16:20 (Zoom オンライン開催)

◆参加人数◆

51人

◆講演会概要◆

「発酵食品好きのひと必見！ これを聞くだけで 今日から食事がひとあじ変わる！」醸造技術は、微生物による発酵現象を管理する技術です。酒・味噌・醤油や発酵食品を生産することで、和食や日本の伝統的文化を支えています。本講演会では、演者らが明らかにした「醸造・発酵の未知領域」をご紹介します。

◆プログラム◆

13:55～14:00 開会挨拶

14:00～14:40 酵母の研究「酵母を使った甘味料生産～アラビトールって何？～」  
吉川 潤 (東京農業大学 醸造科学科 准教授)

14:40～15:20 乳酸菌の研究「醤油乳酸菌における活性型トランスポゾンの発見とアルギニン非分解性株育種への利用」 第90回醤油研究発表会日本醤油技術賞  
脇中 琢良 (ヤマサ醤油株式会社・製造本部 係長)

15:20～16:00 カビの研究「黒麹菌による泡盛古酒香バニリン前駆体の生成過程」  
第29回生物工学論文賞  
眞榮田 麻友美 (東京農業大学 醸造科学科 助教)

16:00～16:20 総合討論

16:20 閉会挨拶

◆部会名：人と生物圏研究部会

◇部会長：濱野 周泰 連絡幹事：中村 貴彦

◇令和4(2022)年度 活動報告

幹事会：令和5年2月、部会活動について (メール)

打合せ：令和5年3月、現地視察の運営について

観 察 会：以下の現地視察はコロナ禍の影響で実施することができなかった。

1. 都市のグリーンインフラ視察  
○北青山再開発緑地 (ののあおやま)
2. 樹木の種・資源保存地視察  
○多摩森林科学園

◆部会名：みどりの環境創造研究部会

◇部会長：中村 幸人 連絡幹事：鈴木 伸一

◇令和4(2022)年度 活動報告

本研究部会は、「みどりの環境デザイン」を基礎理念において、在来植物の有効利用による自然再生とその管理方法の研究・普及を目的としている。本研究会員も多く所属する日本植木協会との連携による研修講座「植生アドバイザー」の開催のほか、環境省・農林水産省共管「人材認定等事業」における「植生管理士」の資格認定事業や補助講座として「スキルアップセミナー」を実施している。本年度は新型コロナウイルス COVID-19 の感染小規模期に「スキルアップセミナー」を開催した一方で、感染急拡大期と重なった「植生アドバイザー」育成講座及び「認定試験」は止むを得ず中止となるなど依然として疫禍に翻弄された1年となった。

然しながら、育成講座の参加申込者に学びの機会を提供するためにオンラインセミナーを開催した他、育成講座のフィールド研修に用いる新植栽地の管理を行うなど環境面の整備を図った。

人と自然の共生に向けて「みどり」を再生する人材をより多く育成輩出するのが当部会の使命である。植生管理業務に興味を持つ方々は増えていると実感されることから、これまでの布石を礎に次年度の活動本格化に繋げていく。

#### 2022年度の主な活動計画

##### 【セミナー】実施

開催日：令和4年6月25日

テーマ：「植生調査士」スキルアップセミナー

場所：「武尊牧場ブナ原生林」群馬県片品村、「ヒロイド原新植栽地」群馬県川場村

参加者：31名

##### 【セミナー】中止

開催日：令和4年8月25日～8月27日（2泊3日）及び事前ビデオ学習

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

参加申込者：38名

##### 【セミナー】実施

開催日：令和4年9月17日

テーマ：「植生アドバイザー」育成オンラインセミナー

方法：ミーティングソフト ZOOM を使用したオンラインセミナー

参加者：35名

##### 【認定試験】中止

開催日：令和4年10月22日

テーマ：「植生管理士」認定試験・筆記

場所：「東京農業大学グリーンアカデミー会議室」

##### 【認定試験】中止

開催日：令和4年11月19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

##### 【幹事会】実施

第1回：令和4年2月18日

テーマ：令和4年度「植生アドバイザー」育成講座、「スキルアップセミナー」実施計画の検討等について

方法：ミーティングソフト ZOOM を使用したオンライン会議

参加者：13名

##### 【幹事会】実施

第1回：令和4年7月13日

テーマ：令和4年度「植生アドバイザー」育成講座の詳細検討等について

方法：ミーティングソフト ZOOM を使用したオンライン会議

参加者：12名

##### 【幹事会】実施

第1回：令和4年10月21日

テーマ：「植生アドバイザー」育成講座フィールド研修用植栽地の管理

場所：「ヒロイド原新植栽地」群馬県川場村

参加者：4名

#### ◆部会名：労災対策研究部会

◇部会長：北田 紀久雄 連絡幹事：半杭 真一

◇令和4（2022）年度 活動報告

<シンポジウムの開催>

日本農業労災学会、労災対策研究部会、就農者推進教育研究部会、農業協同組合研究部会の共催により、以下のシンポジウムをハイブリッドで開催した。

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：「農業労災補償制度を拡充し、農作業事故防止に資するためには何が必要か  
—社労士とJA・行政等関係機関との連携を考える—」

日時：2022年10月21日（金）13:30～16:30

会場：ハイブリッド開催

（東京農業大学世田谷キャンパス 横井講堂・Zoomによるオンライン）

座長解題：瀬川徳子（社会保険労務士法人たんぽぽ会代表）、白石正彦（東京農業大学名誉教授）

基調報告：

- 第1報告「特別加入制度の拡充と農作業従事者の特別加入」田中建一（東洋大学講師）
- 第2報告「農林水産省における農作業安全対策の取り組み」田中康嗣（農林水産省農産局技術普及課生産資材対策室課長補佐）
- 第3報告「建設業の労災補償対策における社労士の役割と課題」矢島友幸（矢島社会保険労務士事務所所長）
- 第4報告「農業労災防止への『社労士からの講演（説明）事例』紹介」堀内政徳（堀内社会保険労務士事務所所長）
- 第5報告「JA現場における労災補償・農作業事故防止対策への取組」桐原 章（JA鹿児島中央会営農サポートセンター主幹）

コメント：

- 佐藤広大（JA 共済連全国本部普及部農業・損害保障推進室農業法人支援グループ課長）、紺野香月（JA ふくしま未来営農部農業振興課）、中村雅和（いのしし社会保険労務士事務所所長）、森崎めぐみ（日本芸能従事者協会理事長）

全体討論

座長総括

<農業労災ワークショップの開催>

日本農業労災学会が主催した以下の第2回農業労災ワークショップを後援して開催した。

テーマ：「農機事故防止対策をいかに進めるか」

日時：2022年6月2日（木）14:00～16:00

方法：オンライン開催

座長解題：宮永 均（JA はだの代表理事組合長）、緒方大造（日本農業新聞論説委員）

基調講演：

- 第1講演「農機事故事例と安全研修」気多 正（一般社団法人日本農業機械化協会技術顧問）
- 第2講演「農作業安全に対する取り組み」稲垣勇一（クボタ農作業安全検討会社内連絡会議事務局・農機国内サービス事業推進部担当部長）

意見交換

東京農業大学総合研究所紀要 第34号

令和5年●月●日 印刷

令和5年●月●日 発行

発行人 矢嶋 俊介

発行所 東京農業大学総合研究所

〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1