

1. 衛星データ等の地理情報による西ジャワ州傾斜畑地域土壌侵食危険度図の作成

〔要約〕インドネシア西ジャワ州にある傾斜面上の畑では、降雨による土壌侵食の危険性があるが、危険度の高い地域の分布がリモートセンシングデータを用いて解析され、地理情報として示すことができる。ここでは、雨季前の9月に豪雨が降る年があるが、この時期に裸地状態としないことにより、土砂が大量に流出することを抑制することができる。

所属	国際農林水産業研究センター・国際情報部				連絡先	029(838)6395	
推進会議名	国際農林水産業	専門	現象解析技術	対象	情報処理	分類	研究

〔背景・ねらい〕

インドネシア西ジャワ州の高原地帯には、傾斜面上に開墾された畑が広く見られる。ここでは、年2回または3回の耕作が行われているが、10月～4月の雨季を中心に短時間に激しい雨が降り、地表面の土壌が侵食される。土壌侵食の程度に影響を与える因子は、降雨・地形・土壌・地表面状態・土地保全形態等であり、リモートセンシングデータを含む地理情報を収集して、これらの分布状態を調べ、土壌侵食の危険度を評価するための手法を開発する。さらに、降雨特性を解析し、作付時期により土壌侵食の危険度がどのように変化するかを調べ、大量の土砂流出を抑制するための方法を検討する。

〔成果の概要・特徴〕

1. 標高1200m程度の地帯に位置し、温帯野菜が広く栽培されている西ジャワ州バンドン県ランゲンサリ村を対象地域とし、USLE (Universal Soil Loss Equation) 式を適用した土壌侵食危険度評価手法を開発する。
2. 自記雨量計を設置し、降雨特性の解析から日雨量と降雨エネルギーとの関係を見出し、1990年以降の日雨量データを用い降雨係数値の月別データを作成し、経年変動特性を解析する。
3. 2万5千分の1地形図を基に5mメッシュのデジタル標高データを作成し、傾斜斜面長係数値を算定する。
4. 2月、6月、12月に観測された衛星データを用い、作付時期・年間作付回数の異なる4種類の農地を判別し、各類型における植被状態の変化を想定した月単位の作物管理係数値分布データを作成する。
5. 土壌侵食を抑制するための段畑が整備されている場合には、空から写した画像上で規則的な縞模様が表れる。その状態が画像のテクスチャ特徴量である“Variance”と“Entropy”の値に反映していることから、リモートセンシングデータの画像解析を行い、保全係数値分布データを作成する。
6. 乾季から雨季への移行期である9月は、降雨が無い年もあれば、豪雨に見舞われる年もあり、土壌侵食に寄与する降雨係数値の経年変動が大きい(図1)。
7. 1990年～2000年の降水量データを用い、月単位の流亡土量を計算し、年間推定量の平均値で表した土壌侵食危険度が高い地域を地理情報として表すことができる(図2)。
8. 本手法は、様々な土地利用形態を仮想した場合の土壌侵食危険度を評価することが可能である。全ての農地で年3回同じ時期に作付けられるパターンを想定すると、9月に播種され、その時期が裸地化する場合(パターン1)には、流亡土量の多い年における土壌侵食の加速効果が顕著であり、9月の植被率が高い場合(パターン3)には抑制効果が顕著である(表1)。

〔成果の活用面・留意点〕

1. 作物の適地性、経済・経営的条件を地理情報として整備することにより、土地利用計画支援システムの構築が可能である。
2. 算定される流亡土量は、地表面の微小な性質や斜面上部からの土砂流入効果を考慮していないので、実際の量よりは概して過大であり、本手法は地域間比較や土地利用変化による効果等の評価に適用される。

〔具体的データ〕

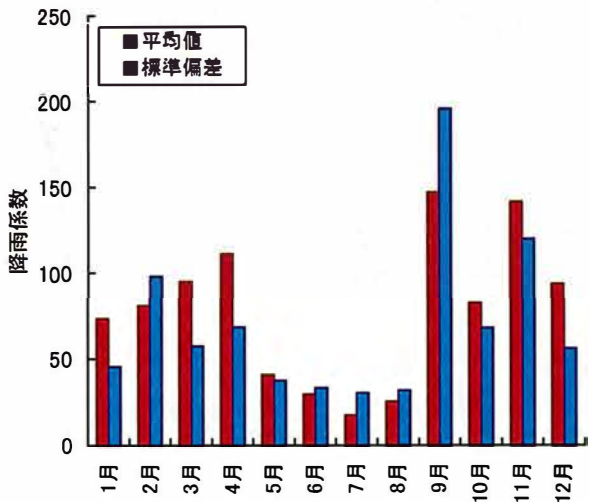


図1 降雨係数(R)の月間平均値と標準偏差
(1990年～2000年のデータによる)
 $R = \Sigma$ (一連降雨の運動エネルギー×ピーク降雨強度)

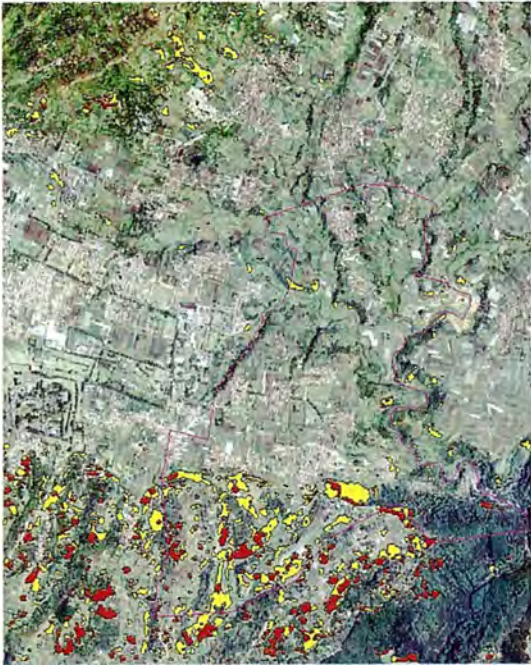


図2 推定年間流亡土量で表した土壌侵食危険度が高い地域の分布

表1 仮想される作付パターンとランゲンサリ村域(388ha)における推定年間流亡土量

パターン	播種期			流亡土量(ton/ha/year)		
				1990年～2000年における最大年の値	最大から3か年の平均値	最大から5か年の平均値
1	1月	5月	9月	221	178	157
2	2月	6月	10月	182	160	147
3	3月	7月	11月	155	147	140
4	4月	8月	12月	168	158	149
現況土地利用 (年2～3作)	2月	(6月)	10月	171	158	148
	4月	(8月)	12月			

〔その他〕

研究課題：温帯野菜生産地における空間特性情報の総合的管理・活用技術の開発

予算区分：国際プロ〔地域農業〕

研究期間：2002年度(2001～2002年度)

研究担当者：内田諭、Sofyan Ritung、Dwi Kuntjoro (インドネシア土壌農業気象開発研究所)

発表論文等：

- 1) 内田諭、Sofyan Ritung (2002)：西ジャワ州野菜生産地域を対象としたリモートセンシングによるUSLE式係数値の推定。日本写真測量学会平成14年度年次学術講演会発表論文集、85-88。
- 2) Wikantika, K., Uchida, S. and Yamamoto, Y. (2002)：Mapping diversification of vegetable features in mountainous area with spectral- textural based analysis and linear mixture modeling approaches. 日本写真測量学会平成14年度年次学術講演会発表論文集、69-74。
- 3) 内田諭 (2002)：リモートセンシングデータを用いたインドネシア温帯野菜生産地域における土壌侵食危険度の評価。システム農学第18巻別号2、69-70。

2. 中国山東省における水資源変化が食糧需給へ及ぼす影響

〔要約〕中国山東省では水資源の変動が穀物生産変動の大きな要因となっており、地域の食糧需給への影響が大きい。水供給量の制約が将来の食糧需給に大きな供給制約を生じさせる可能性を示している。

所属	国際農林水産業研究センター・国際情報部			連絡先	029(838)6350		
推進会議名	国際農林水産業	専門	農業経済	対象	食料需給	分類	研究

〔背景・ねらい〕

中国においては、農業生産の多様化、近代化が進行する中で、灌漑用水への依存が高まる一方、都市や郷鎮企業（農村工業）などからの水需要の増加が農業生産の制約となっている。このため水資源の変動と食糧生産との関連性を定量的に解明する必要がある。本研究では中国における食糧の主産地である山東省の水需給の変化が食糧生産におよぼす影響を、シミュレーション分析によって明らかにする。

〔成果の内容・特徴〕

1. 山東省における干ばつは、1980年代の被害年（年間 300 万ヘクタール以上の被害面積の年）の平均面積は 345 万ヘクタールであったが、1990 年代では 416 万ヘクタールと被害面積の大規模化が確認され、年間の食糧需給ギャップ（生産量－消費量）の被害年平均（1,287 万トン）と通常年（被害年以外の年）平均（1,589 万トン）との差は 300 万トン以上に達する。（図 1）
2. 将来の人口増加、都市拡大や工業進展による耕地面積の減少が加速すること、灌漑の反収への影響等を含むシステムダイナミクスモデルを用いて、水の供給量による食料需給ギャップのシミュレーション分析を行った。
3. 結果、水供給量が近年の平均供給量である 250 億³の水準で続くと仮定した場合、食糧需給ギャップは年々拡大し 2008 年には 2,000 万トンを超える供給不足となる。（図 2）
4. 一方、水供給量が 350 億³に増えたと仮定した場合（2030 年に山東省の水需要の下限が 335 億³という予測（聞き取り調査による））には、食糧需給ギャップはかなり緩和され、最大でも 1,000 万トンの供給不足に留まる。（図 2）

（ア）いずれにしても、水の供給状況は、山東省の食糧需給の動向を大きく左右し、山東省は食糧主産地としての地位を失う可能性が高い。

〔成果の活用面・留意点〕

モデルの構成と他の地域の特性やデータを考慮した上で、山東省だけではなく中国の他の地域にも応用できる。

〔具体的データ〕

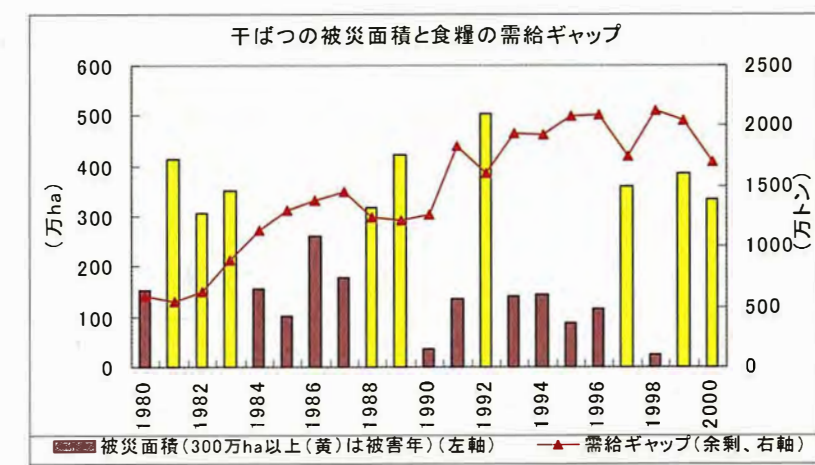


図 1 干ばつによる被害の面積と食糧需給ギャップの試算

注：食糧は穀物、イモ類、豆類の合計。

食糧需給ギャップは生産量と消費量の差であり、消費量は都市部と農村部の消費量、人口の割合、聞き取り調査による飼料用需要の割合をもとに推定した値であり、加工用需要等が含まれていないため、やや過大に推計されている。

被害年である 1992 年の水供給量は 246 億³

資料：『中国統計年鑑』（各年版）、『農村統計年鑑』（各年版）、現地聞き取りデータ等による。

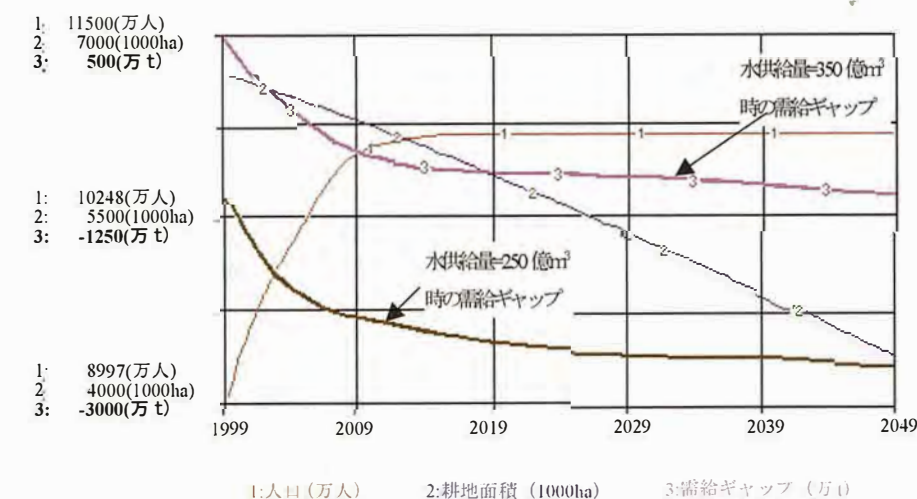


図 2 異なる水供給量による食糧需給ギャップの変化

注：食糧需給ギャップは図 1 と同じ。

〔その他〕

研究課題名：アジア地域の環境変化と食料安全保障に関する研究

予算区分：受託研究〔アジア食料〕

研究期間：2001 年度（1999 ～ 2001 年度）

研究担当者：銭小平、小山修

発表論文等：

1) 銭小平（2002）：食料生産と環境変化の定量分析．農業経営研究 6，152- 155.

2) Koyama,O. (2000): Food security and management of rural environment in Asia. Global Environmental Research, 3(2), 79- 87.

3. 世界の林産物需給・貿易に関する政策分析のための計量モデル

〔要約〕新たに開発された世界林産物需給モデルは、林産物を対象とした世界に類例を見ない連立方程式体系の政策分析モデルであり、貿易自由化が森林資源へ及ぼす影響などの分析を迅速かつ容易に行うことができる。

所属	国際農林水産業研究センター・国際情報部			連絡先	029(838)6304		
推進会議名	国際農林水産業	専門	経済政策	対象	林産物全般	分類	行政

〔背景・ねらい〕

林産物貿易と森林保全の問題は、WTO 貿易交渉の場等で大きな関心事項となっており、わが国においてもグローバルな視点から定量的な分析を行うことが求められている。このため、わが国の木材輸入に関係の深い環太平洋地域を中心とした林産物需給・貿易均衡モデルの開発を行い、貿易自由化が森林資源利用の持続可能性等に及ぼす影響を及ぼすかについて分析する。

〔成果の内容・特徴〕

1. モデルは、産業用丸太、製材、合板、ボード、パルプ、紙の 6 品目と森林資源の計 7 つの部門から構成され、さらに、パルプと紙、産業用丸太とパルプ、製材、合板、ボード等との部門間の複雑な材料製品関係を定式化している。
2. モデルは、経済活動と資源変動との関係を分析するため、森林資源の多寡が産業用丸太供給の潜在生産力として機能し、産業用丸太供給の多寡が次年次の資源変動に反映されるという動学的な関係を定式化している。
3. 地域は、林産物貿易における重要度、わが国との貿易関係、モデル内でのバランス、結果の再集計の利便性等に配慮し、世界全体を 24 の単独国、10 地域（中国を含む）と貿易調整のための「その他世界」の計 35 地域に分割している。
4. モデルは、従来の数理計画法によるものと異なる連立方程式体系であり、行動方程式には、弾力性一定の指数関数式を採用している。このため、理解や変更が容易であり、解法速度も格段に改善されている。
5. モデルの感応度テストの試算例として、2005 年においてすべての関税率を撤廃した場合の影響を 2004 年の水準に据え置いた場合と比較した結果は、世界合計で見た場合には大きな変化がないが、地域別には、図 2 に示すとおり 10%内外の影響を受ける地域があり、影響の程度は関税率の大小等に影響され、一律ではない。

〔成果の活用面・留意点〕

1. 各方程式に採用されている各種弾力性、技術係数は、既存モデルのものを地域毎、品目毎に加重平均したものであり、今後、再推定し、精度を向上させることが望ましい。
2. 各地域の政策変数、価格に関するデータは、それぞれ既存モデルに用いられた関税率、貿易価額から算出した取引単価を採用しており、追加情報に応じ修正を行うことが望ましい。

〔具体的データ〕

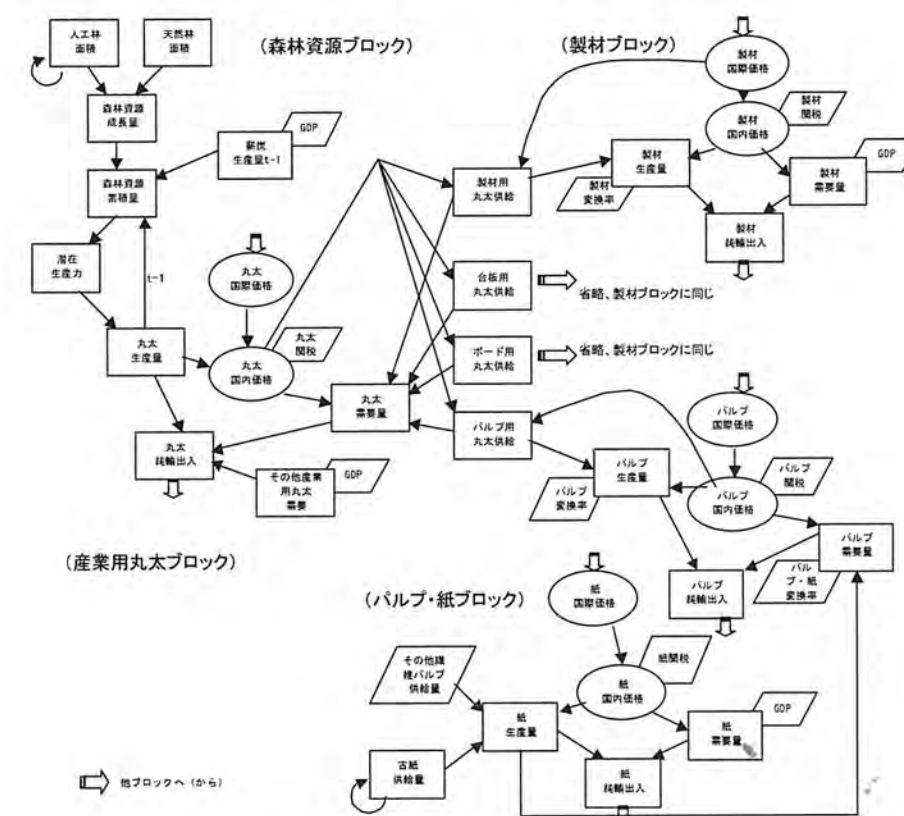


図1 世界林産物需給モデルの構造

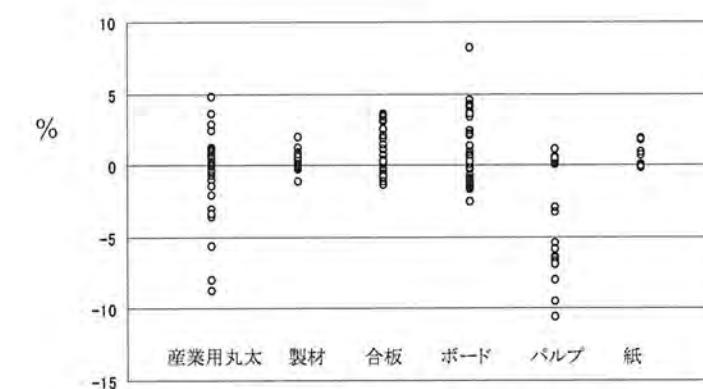


図2 2005年に関税率の撤廃を仮定した場合の2010年における各品目需要量変化率の地域偏差（○は、それぞれ、関税を維持した場合と比較した個々の地域の需要量増減（%）を表す。）

〔その他〕

研究課題名：木材需給・貿易均衡モデルの開発

予算区分：技会プロ・行政対応特研〔林産物貿易〕

研究期間：2002年度（2000～2002年度）

研究担当者：小山修、古家淳、岡裕泰（森林総研）、田村和也（森林総研）

発表論文等：小山修、古家淳（2002）：林産物需給・貿易均衡モデルの開発．JIRCAS Working Report No.27.

4. 浸透圧センサー ATHK1 を分子素材とした環境ストレス耐性植物の作出

〔要約〕浸透圧センサー ATHK1 の遺伝子操作により、複数の環境ストレス耐性に関与する遺伝子群の発現量を操作し、乾燥、塩、低温ストレス耐性を付加した遺伝子組換え植物を作出できる。

所属	国際農林水産業研究センター・生物資源部			連絡先	029 (838) 6305		
推進会議名	国際農林水産業	専門	バイオテック	対象	野草類	分類	研究

〔背景・ねらい〕

遺伝子操作による環境ストレス耐性作物の実用化には、どのようにして複数の遺伝子群をストレス時に同時に発現させるかが大きな課題となっている。乾燥耐性に直接働く多数の遺伝子の発現を統括的に制御しているシグナル受容体（浸透圧センサー ATHK1）に着目し、ATHK1 遺伝子を分子素材とした環境ストレス耐性植物の分子育種を試みる。

〔成果の内容・特徴〕

1. モデル植物シロイヌナズナから単離したヒスチジンキナーゼ ATHK1 は、酵母の中で浸透圧センサーとして機能する。
2. ATHK1 遺伝子内にランダムに塩基置換を導入し、野生型 ATHK1 の活性を阻害する 6 種類のドミナントネガティブ型 ATHK1 変異遺伝子を単離した。
3. ドミナントネガティブ型 ATHK1 変異遺伝子を過剰発現させた遺伝子組換え植物は、乾燥、塩、低温ストレス耐性に関与する多くの遺伝子の発現量が増加し、乾燥、高塩濃度および低温ストレスに対して耐性を示す（図 1 および図 2）。この結果は、ATHK1 が負の調節因子として働いており、その機能が抑えられることによってストレス応答を模倣したためと考えられる。
4. このように、ひとつの遺伝子（浸透圧センサー）の人為的操作により、複数の環境ストレス耐性に関与する遺伝子群の発現量を操作することができ、乾燥、塩、低温ストレス耐性を付加することができる。

〔成果の活用面・留意点〕

1. シロイヌナズナの浸透圧センサー ATHK1 遺伝子を分子素材とした環境ストレス耐性作物の開発に活用する。
2. 強力な発現誘導を促すプロモーターで ATHK1 遺伝子を過剰発現させた場合には、遺伝子組換え植物は通常の生育環境下でもストレス時と同じぐらい生育が遅くなるため、ストレスを受けた時にだけ ATHK1 遺伝子の発現を誘導するようなプロモーターと組み合わせる必要がある。

〔具体的データ〕

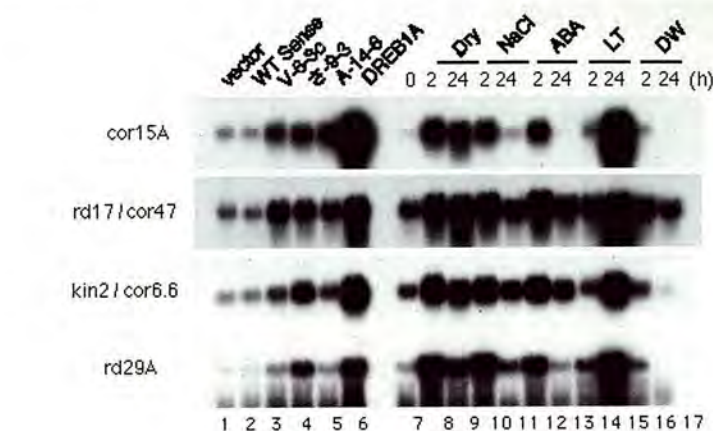


図1 非ストレス環境下でのドミナントネガティブ型ATHK1変異遺伝子を過剰発現させた遺伝子組換え植物（レーン3～5）の乾燥、塩、低温ストレス誘導性遺伝子の発現。（レーン1～2：ATHK1遺伝子が入っていない組換え植物。レーン6：DREB1A遺伝子の組換え植物。レーン7～17：非遺伝子組換え植物。Dry：乾燥処理、NaCl：塩処理、ABA：アブシジン酸処理、LT：低温処理、DW：水処理、(h)：処理時間）

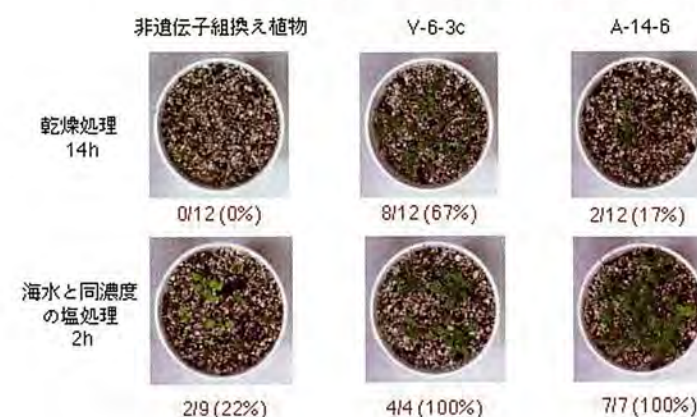


図2 ドミナントネガティブ型ATHK1変異遺伝子を過剰発現させた遺伝子組換え植物（V-6-3c、A-14-6）の乾燥、塩ストレス耐性。（赤字は生存率）。乾燥処理は寒天プレートで育てた播種後3週間目の植物をろ紙上で14時間乾燥させた後、土植えた。塩処理は寒天プレートで育てた播種後3週間目の植物を0.6Mの食塩水に2時間浸した後、土植えた。

〔その他〕

研究課題名：高等植物の環境ストレス受容機構の解明

予算区分：基盤

研究期間：2002年度（1998～2002年度）

研究担当者：浦尾剛、篠崎和子

発表論文等：

- 1) Urao, T., Yakubov, B., Satoh, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Seki, M., Hirayama, T. and Shinozaki, K. (1999): A transmembrane hybrid-type histidine kinase in Arabidopsis functions as an osmosensor. Plant Cell, 11, 1743-1754.
- 2) Urao, T., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2000): Two-component system in plant signal transduction. Trends in Plant Science, 5, 67-74.
- 3) Urao, T., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2001): Plant histidine kinases: An emerging picture of two-component signal transduction in hormone and environmental responses. Science's STKE, 1-4.

5. 南・東南アジア土着野菜の抗酸化活性の評価

〔要約〕南・東南アジアの土着野菜は、食品の機能性のひとつである抗酸化活性、ビタミン C 含量および全フェノール含量が、種類や系統によって大きく異なる。これらの知見は、土着野菜の優良系統選抜のひとつの指標として利用できる。

所属	国際農林水産業研究センター・生物資源部				連絡先	029(838)6352	
推進会議名	国際農林水産業	専門	育種	対象	他の葉茎菜類	分類	研究

[背景・ねらい]

ある特定の地域に適応し、利用されている土着野菜 (indigenous vegetable) は種類が極めて多く、それらの形態的・生態的特性に基づく栽培法や増殖技術、また栄養成分および利用法については、十分に解明されていない。そこで、南・東南アジアの土着野菜の有する潜在能力を明らかにするとともに、優良系統選抜指標としての利用の可能性を探るために、それら土着野菜の抗酸化活性を評価し、抗酸化成分含量との関係を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 抗酸化活性は 80%エタノール抽出液をロダン鉄変法で、全フェノール含量は同抽出液をフォーリン・デニス法で、共に分光光度計を用いて測定する。ビタミン C 含量は、メタリン酸抽出液を RQflex plus (Merck、簡易迅速定量分析キット) によって測定するので、HPLC 等高額機器を使わず、簡便に評価できる。
2. チャンチン (*Toona sinensis*)、ワサビノキ (*Moringa spp.*) の新葉、ノゲイトウ (*Celosia argentea*)、シソ (*Perilla frutescens*)、キマメ (*Cajanus cajan*) の新葉、イヌホウズキ (*Solanum nigrum*) の新葉、カラスザンショウ (*Zanthoxylum ailanthoides*)、トウガラシ (*Capsicum annuum*) の新葉、モロヘイヤ (*Corchorus spp.*) の中に極めて強い抗酸化活性を示す品種・系統がある。また、抗酸化活性の高い土着野菜は、ビタミン C 含量および全フェノール含量、あるいはそれらのいずれかが高い傾向がある (表 1)。
3. 抗酸化活性、ビタミン C および全フェノール含量は、同じ野菜であっても品種・系統間で大きな変異が認められるものがある (表 2)。
4. 土着野菜の優良系統選抜のために、形態的・生態的特性、収量特性の他に、抗酸化活性等も選抜指標として利用可能である。

[成果の活用面・留意点]

ビタミン C および全フェノール含量は、栽培時期および栽培条件等によって変動しやすいが、抗酸化活性は比較的安定している。選抜の際にはこれら変動にも留意すべきである。

表 1 南・東南アジアの土着野菜における抗酸化活性 (平均値)

土着野菜(葉茎類)	抗酸化活性 ¹⁾	ビタミンC ²⁾	全フェノール ³⁾
(抗酸化活性：強)			
1 チャンチン	128	125	3,784
2 ワサビノキの新葉(Mo13)	115	287	691
3 ノゲイトウ(紫種)	114	134	947
4 シソ	114	84	727
5 キマメの新葉	113	259	833
6 ワサビノキの新葉	113	245	713
7 イヌホウズキの新葉	112	146	432
8 カラスザンショウ	111	82	2,134
9 トウガラシの新葉(紫種)	108	226	817
10 モロヘイヤ	107	153	503
11 クコの新葉	105	116	597
12 テリハナスビの新葉	105	120	537
13 バセリ	104	132	271
14 トウガラシの新葉	99	128	817
15 ヨウサイ	99	45	726
16 バジル	99	28	302
17 スイゼンバナ	97	35	313
18 アカザカズラ	97	59	232
19 食用タンボポ	96	27	137
20 サツマイモの茎葉	96	35	684
21 クレオメ	95	127	274
22 エンダイブ	94	41	360
23 フェアオイ	94	75	170
24 コリアンダー	93	72	580
25 ツルナ	93	32	123
26 シュンギク	92	45	281
27 ケール	91	68	187
28 フダンソウ	90	33	145
29 ヤサイカラスウリの新葉	89	73	457
30 コマツナ	87	60	143
31 チャイブ	85	51	133
32 スベリヒユ	84	27	131
33 葉ダイコン	83	54	99
34 セロリ	79	30	91
35 ロケットサラダ	77	105	235
36 ヒユナ	73	59	247
37 葉ネギ	73	49	94
38 山蘇蔵	64	44	133
39 ツルムラサキ	61	95	315
40 トウモロコシ	54	-	66
(抗酸化活性：弱)			

表 2 南・東南アジアの土着野菜にみられる抗酸化活性等の変異

土着野菜	調査系統数	抗酸化活性 ¹⁾ 最高-最低	ビタミンC ²⁾ 最高-最低	全フェノール ³⁾ 最高-最低
(抗酸化活性：強)				
シソ	7	118-110	98-67	1039-479
キマメの新葉	51	116-86	259-78	1348-757
ワサビノキの新葉	26	118-92	323-158	983-566
イヌホウズキの新葉	18	116-108	178-128	570-357
バセリ	3	106-104	143-116	298-254
モロヘイヤ	49	110-100	216-70	666-318
ヨウサイ	72	116-80	68-31	1324-478
トウガラシの新葉	22	108-93	226-82	1158-428
バジル	12	107-87	31-23	484-182
サツマイモの茎葉	5	97-89	51-39	913-570
クレオメ	17	99-91	160-113	322-243
ヤサイカラスウリの新葉	70	101-81	86-37	530-286
シュンギク	20	96-89	57-35	343-210
コマツナ	7	91-82	82-46	194-103
ヒユナ	100	103-33	135-28	452-124
ツルムラサキ	78	94-35	154-53	547-211
(抗酸化活性：弱)				

注：表1に同じ。

1) : 対照(10mM BHA)の抗酸化活性を100とした時の相対活性。
BHAの最終濃度は40マイクロモル、サンプルの最終濃度は2mg(FW)/mL。
2) : ビタミンC含量(mg/100g生重)
3) : 全フェノール含量(mgクロロゲン酸当量/100g生重)
ビタミンCと全フェノール含量の太字は、上位10位を示す。
調査系統数は表2参照。これ以外の土着野菜は1-2系統の平均値を示す。

[その他]

研究課題：東南アジア在来野菜の特性評価、特に栄養・機能性成分および園芸学的特性等を重視した育種素材の選抜

予算区分：国際プロ〔在来野菜育種〕

研究期間：2002年度(2000～2002年度)

研究担当者：佐藤隆徳、Liwayway M.Engle (AVRDC)

発表論文等：

- 1) Sato, T. (2002): Evaluation and characterization of indigenous leafy vegetables. RETA5839 Workshop (Collection, Conservation and Utilization of Indigenous Vegetables), Sept.2002, AVRDC, Tainan, ROC, 8-11.
- 2) Sato, T. (2002): Evaluation and characterization of indigenous vegetables. RETA5839 Final Workshop (Collection, Conservation and Utilization of Indigenous Vegetables), Dec.2002, Kasetsart University, Bangkok, Thailand, 16-19.
- 3) Sato, T., Gueco, L.S. and Engle, L.M. (2002): Evaluation of functional properties of Horseradish Tree (*Moringa spp.*) . (Same as above 2)

6. アルゼンチンにおけるダイズ急性枯死症の病原

〔要約〕 アルゼンチンの大豆主要栽培地帯に発生したダイズ急性枯死症の罹病植物から *Fusarium* 菌を分離し、形態学的な観察をするとともに、温室内での接種試験による病徴の再現および病原菌の再分離の結果、病原は *Fusarium solani* f. sp. *glycines* と同定される。

所属	国際農林水産業研究センター・生産環境部			連絡先	029(838)6305		
推進会議名	国際農林水産業	専門	作物病害	対象	だいず	分類	研究

〔背景・ねらい〕

アルゼンチンでは、大豆栽培の拡大に伴ってダイズ急性枯死症の発生が目立つようになり、大豆主要栽培地帯のうち、コルドバ州およびサンタフェ州で多発している。地域によっては発生面積率が 80% を越える圃場もある (Vallone, 2001)。アルゼンチンにおけるダイズ急性枯死症の発生については、既に Ploper (1992) および Ivancovich (1993) が報告しているが、病原学的検討がまだ不十分である。そこで、アルゼンチンにおける大豆主要栽培地帯の圃場より急性枯死症の罹病個体を採集し、病徴を観察するとともに、病原菌の分離、病徴の再現、病原菌の再分離というコッホの三原則に基づいて病原を同定する。

〔成果の内容・特徴〕

1. 病徴および標徴：ダイズ急性枯死症は、初め葉に黄色の斑点を生じ、葉脈間が褐変して全体が葉焼け状態になって落葉する (図 1)。側根および主根上部が赤褐色になり、細根が腐敗するために抜けやすくなる (図 2)。主根上部の表面にはしばしば白～青色の *Fusarium* の大型分生胞子塊が認められる。
2. *Fusarium* 菌の分離：病原菌は、各地 (コルドバ州ラスロサス、ヘネラル・ロカ、ツクマン州サン・アグスチン) から採集した罹病植物の胚軸下部～主根上部の赤褐色部分から高い頻度で分離される。病原菌は、① PDA 培地上で生育が極めて遅く、その生育速度は腐生性 *Fusarium solani* の 1/2 ～ 1/3 である。② 小分生子は形成しないが、50 μ m 以上の大分生子を形成するので、それより小さい腐生性 *F. solani* とは形態的に区別できる。
3. 接種による病徴再現：菌株の病原性を調べるため、病原菌をソルガム粒に培養し、乾燥後粉碎して一定量接種し、約 1ヶ月栽培した後、発病調査を行う。病徴は 2 週間目ころから黄斑を生じ (図 3)、後に葉脈間が褐変する (図 4)。葉および根の病徴は圃場のものと同様である。
4. 病原菌の再分離：PDA 培地に置床した罹病個体の主根上部、主根下部および側根部の組織片より病原菌が再分離され、培地上で確認できる (表 1)。
5. 以上のとおり、コッホの三原則を満たしており、アルゼンチンのダイズ急性枯死症の病原は *Fusarium solani* f. sp. *glycines* と同定できる。

〔成果の活用面・留意点〕

アルゼンチンにおけるダイズ急性枯死症の病原が明らかになったので、より精度の高い簡易検定法が確立され、大豆抵抗性品種育成が効率的に推進される。

〔具体的データ〕



図 1 圃場におけるダイズ急性枯死症の葉の病徴 図 2 ダイズ急性枯死症の根の病徴

表 1 接種罹病植物からの *Fusarium solani* f. sp. *glycines* MJ161 の再分離

分離部位	供試組織片数	分離組織片数*	分離率%
主根上部	25	19	76.0
主根下部	25	4	16.0
側根部	25	12	48.0

*PDA 培地に分離して菌株を確認



図 3 温室における初期病徴

図 4 温室における葉の病徴

〔その他〕

研究課題：アルゼンチンにおける大豆主要病害の発生生態の解明と防除法の開発

予算区分：国際プロ〔南米大豆〕

研究期間：2002 年度 (1999 ～ 2003 年度)

研究担当者：本間善久、青木孝之 (生物研)、A. R. Lattanzi (INTA、アルゼンチン)

発表論文等：

- 1) 本間善久、青木孝之、堀田光生、R. Martin・J. M. Francioni、R. A. Lattanzi アルゼンチンにおけるダイズ急性枯死症の病徴と病原菌 (投稿予定)
- 2) 青木孝之、本間善久、Lattanzi, A. R. (2002)：アルゼンチンの急性枯死症のダイズより分離されたフザリウム属菌。日植病報 (講要)。

7. メコンデルタに適した小型籾乾燥機の開発

[要約] 本機は、ベトナム・メコンデルタの雨期に適した個別農家向けの籾乾燥機である。構造が簡単なので取り扱いが容易で、2t の湿籾（水分 25%）を約 13 時間で乾燥することができる。また、胴割れ率を低く抑え、乾燥開始約 5 時間後の混合・攪拌操作により水分ムラを少なくすることができる。

所属	農研機構・近中四農研・総合研究部・情報システム研究室、 国際農林水産業研究センター・生産環境部			連絡先	084(923)4100		
推進会議名	国際農林水産業	専門	農業機械	対象	水稻	分類	国際

[背景・ねらい]

メコンデルタはベトナム最大の米生産地帯であるが、収穫時期が雨期の場合、従来の天日乾燥方式では変質や胴割れの増加を招くので、品質を保持する個別農家向けの小型乾燥機の開発が求められている。そこで、容量 2t 程度で取り扱いが容易な全天候型の小型乾燥機を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 本乾燥機は、練炭火炉、送風ファン・駆動エンジン及び両側に傾斜した乾燥層を持ち、乾燥層が低い位置に設置されているため、張り込み、混合、取り出しが容易である。また、簡易に設置できる雨よけテントを設置するので、突然の降雨でも乾燥を継続できる（図 1）。
2. 天日乾燥では、日差しが強い日には、乾燥速度が上昇し胴割れ粒の多発を招いたり、降雨の日が続くと仕上げまで 3 日以上要することがあり、品質が安定しない。本乾燥機は、質量 2t、初期水分 25% の籾を約 13 時間で乾燥し、胴割れの発生を低く抑え、常に一定の品質で乾燥できる（表 1）。
3. 乾籾 1t 当たりの練炭、軽油の燃料コストは約 74,000VND（約 620 円）である（表 1）。また、本乾燥機の組立、乾燥、撤去まで 4 人で行うことができる。作業に要する時間は約 4 時間である（表 2）。
4. 本乾燥機で乾燥を行うと、乾燥籾層の上下等で水分ムラが生じるが、乾燥開始約 5 時間後に混合・攪拌操作を行うことにより、水分ムラを少なくするとともに乾燥速度を高めることができる。2 回目の混合・攪拌操作は効果が小さいため、労力等を考慮すると、混合・攪拌操作は 1 回で十分である（図 2）。

[成果の活用面・留意点]

1. 本乾燥機の価格は、雨よけテントを除いて 6,500,000 VND（約 54,000 円）であり、既にメコンデルタを中心に 40 台程度普及している。
2. 本乾燥機を屋外の凹凸がある場所に設置する際には、接地面等からの空気漏れがないよう、留意する必要がある。

[具体的データ]



図 1 テントハウス型乾燥機の外観と主な仕様

乾燥部	幅 (mm)	2,900
	長さ (mm)	4,000
	高さ (mm)	700
	深さ (mm)	280
送風機	ファン径 (mm)	450
	風量 (m³/s)	2.0
火炉	練炭火炉 2 台	
ファン駆動用エンジン	ディーゼル	
雨よけテント	4m × 6m	

表 1 テントハウス型の乾燥性能と天日乾燥との比較

乾燥方法 試験日	テント型乾燥機		天日乾燥	
	13/6/02	19/6/02	13/6/02	19/6/02
供試籾の品種	OM25-12	OM1490	OM25-14	OM1490
張り込み量 (kg)	1,959.4	2,063.0	129.4	118.4
籾初期水分 (%)	21.3	24.7	23.2	27.5
籾終了水分 (%)	13.9	14.8	14.6	13.2
乾燥時間 (h)	9.2	13.5	5.0	11.1 延べ 3 日
乾燥速度 (%/h)	0.80	0.73	1.72	1.29
軽油消費量 (l)	12.0	13.6	—	—
練炭消費量 (kg)	58.0	94.0	—	—
軽油消費コスト (VND)	36,000	40,800	—	—
練炭消費コスト (VND)	58,000	94,000	—	—
総燃料消費コスト(15%換算) (VND/t)	51,814	73,759	—	—
胴割れ率 (%)	2.0	3.5	22.0	3.5
外気温度 (°C)	—	31.2	—	31.4
外気湿度 (%RH)	—	65.9	—	71.2
入気熱風温度 (°C)	48.8	37.1	—	—
入気熱風湿度 (%RH)	21.8	46.7	—	—
穀温 (°C)	34.4	31.4	45.5	35.8

表 2 テントハウス型の作業時間

作業内容	作業時間	作業人数
	(時間/人)	(人)
乾燥機組立・設置	1.58	4
湿籾 2t 張り込み	0.69	4
混合・攪拌作業	0.37	4
練炭交換	0.37(7 回)	2
給油作業	0.07(1 回)	1
乾燥籾取出し	0.63	4
乾燥機分解・撤去	0.2	4
総作業時間	3.91	

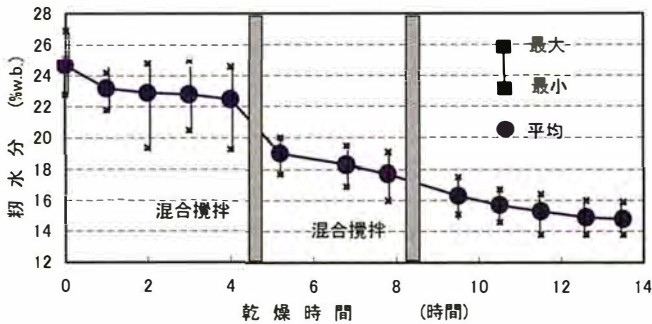


図 2 テントハウス型の乾燥曲線と混合・攪拌操作の効果

[その他]

研究課題：メコンデルタにおける雨期作籾乾燥技術の開発

予算区分：国際プロ [メコンデルタ]

研究期間：2002 年度（1999 ～ 2002 年度）

研究担当者：大黒正道（近中四農研）、小林恭、金谷豊（中央農研）、小林廣美、平岡博幸、
Le Van Binh、Hoang Bac Quoc（CLRRI、ベトナム）、大下泰生（北海道農研）

発表論文等：

- 1) 大下泰生，平岡博幸（2000）：ベトナム・メコンデルタにおける米の乾燥作業の現状．農作業研究 35（別 1），35- 36．
- 2) 小林恭，平岡博幸（2001）：ベトナム・メコンデルタにおける米の乾燥作業の現状．（2）－小型乾燥機の性能－．農作業研究 36（別 1），45- 46．

8. 西ジャワ高原野菜地帯における 1 年 3 作の短期輪作による キャベツ根こぶ病の抑制

〔要約〕西ジャワ高原野菜地帯の主要作物であるキャベツに多発する根こぶ病被害は、ニンジン、ジャガイモを組み込んだ 1 年 3 作の輪作により、初期生育が順調に保たれ、実用的に被害の無い程度の収量が得られるまで制御することができる。この効果は作付け順序を変えても変わらず、また 1 作期の休閑も有効である。

所属	国際農林水産業研究センター・生産環境部			連絡先	029(838)6362		
推進会議名	国際農林水産業	専門	栽培	対象	キャベツ	分類	国際

〔背景・ねらい〕

インドネシアでは、農村所得向上を求め、相対的優位性のある高原地帯で野菜生産が集中的に行われている。なかでも根こぶ病の寄主となるアブラナ科野菜が集中的に作付けられ、キャベツ、ハクサイ、チンゲンサイ、カイラン等多くのアブラナ科野菜で根こぶ病が激発している。また、日本で効果の上がっているフルスルファミド粉剤はコスト面で利用が困難であり、また雨が多く急斜面畑が多い熱帯高原では、農薬に頼らない環境保全的な方法が必要である。そこで、農薬を使わない場合の最も基本的方法である輪作をとりあげ、根こぶ病抑制の効果はもちろん、出来るだけ現状に即した作物組み合わせと、短い輪作年限により、実際の農業に取り込みやすい輪作を明らかにする。

〔成果の内容・特徴〕

1. キャベツの根こぶ病被害は 2 作目より明確に生じた。西ジャワ高原地帯で根こぶ病が広く発生し、根こぶ病菌が広範に分布している現状から、2 作目から被害が発生する状況は多いと考えられる (図 1、表 1)。
2. インドネシアの高原野菜として作付面積の多いキャベツ、ニンジン、ジャガイモを組み込んだ 1 年 3 作の輪作により、著しくキャベツの根こぶ病を抑制できる。また、この輪作はどの順序でも根こぶ病を抑制できる (表 2)。
3. 1 作目をプラスチックマルチフィルムで覆って休閑した場合も根こぶ病被害を抑制できる (表 1)。
4. 輪作、休閑で根こぶ病被害を抑制した場合でも、収穫期には根部に根こぶ病被害が見られ、連作と大差の無い場合も見られた。しかし、生育の前半の生育の程度を示す最大外葉の大きさは、常に大きく、初期生育が根こぶ病被害から回避されたこと、また、後半の生育においても、根こぶ病被害が緩やかに進行して、ほぼ実的に被害のない収量が得られたと考えられる (表 1、2)。
5. この輪作体系では、ニンジンに対し、ネコブセンチュウ被害、ジャガイモに対し青がれ病などの被害が見られるが、それぞれの連作よりは被害が少なく、収量も多い傾向にあり、組み合わせ全作物でも、概ね良好な組み合わせといえる (図 1)。

〔成果の活用面・留意点〕

1. 輪作区にも根こぶ病が残存しており、長期に安定な効果は更に検討を必要とする。また、輪作効果は初期の被害回避が重要であり、効果を安定させるためには、初期生育を良好に経過させるよう注意する。
2. 雑草放任後で根こぶ病が著しい例が有ること、本研究結果は除草を十分に行った条件で行っていることから、雑草管理には注意をする。また、雑草管理と輪作効果は今後検討を要する。
3. 1 年間の休閑によっても著しい根こぶ病被害がでる強酸性土壌が確認されているので、酸度矯正等、激発条件を回避する条件を整えた上で輪作を行う。

〔具体的データ〕

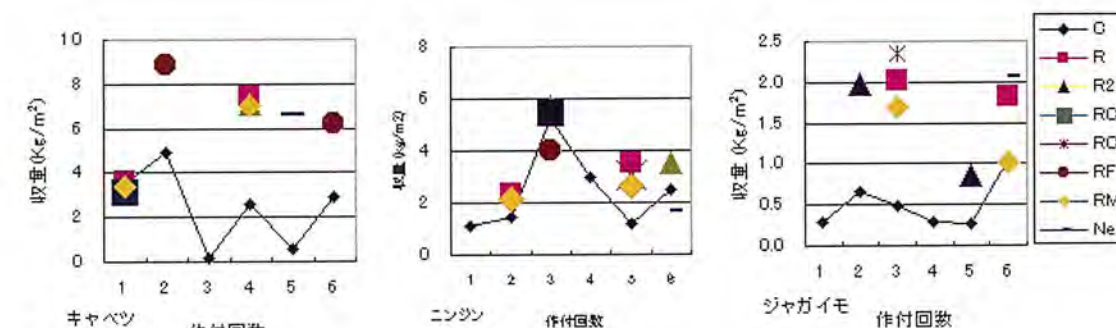


図 1 1 年 3 回作付の連作下における収量の推移と輪作による障害回避効果

C: 連作 R: キャベツ-ニンジン-ジャガイモ輪作 R2: キャベツ-ジャガイモ-ニンジン輪作
RC: R 輪作の各作物の間にトウモロコシを挟む輪作 RC2: R2 輪作にトウモロコシを挟む輪作
RF: R 輪作の 2 作ごとに休閑を挟む輪作 RM: R 輪作に、ネギ、トマト、トウモロコシを混作
New: 4 作以上休閑後作付供試圃場の土壌は砂質褐色火山灰土壌

表 1 前作を黒プラスチックマルチで覆って休閑した場合の根こぶ病抑制効果

作付 体系	根こぶ病被害個体数 ¹⁾				新鮮重 (Kg/m ²)			最大外葉 (cm)	
	健全	Level 1	Level 2	Level 3	全体	外葉	結球	長さ	幅
2連作	4.5	0.5	5.0	0.0	7.58	2.65	4.91	32.2	30.0
前作休閑	4.5	2.0	3.5	0.0	13.17	4.19	8.87	37.6	33.4
LSD5%	20.4	4.8	17.3		5.32	2.20	3.08	6.3	6.1

1: 調査個体数は 10。Level 1 は主根がわずかに肥大、2 は主根肥大、正常な細根がかなりある。3 は極わずか。

表 2 キャベツの 4 連作に対する根こぶ病被害と輪作 1 回転の効果 (1m² 当たり個体数または g)

作付 体系	定植後の萎凋指数 (%)				根こぶ病 IOD	最大外葉 (cm)		収穫 個体数	結球重
	24 日	47 日	54 日	66 日		長さ	幅		
C	29	51	62	66	89	27.6	25.4	2.88	2570
R	1	0	1	1	26	34.9	33.7	3.97	7391
R2	0	0	1	1	28	35.6	31.4	4.27	7123
RM	1	0	0	0	3	35.4	32.6	4.47	7024
l.s.d. 5%	5	11	22	18	35	4.1	2.0	0.75	1613
F	104.62	84.31	31.30	52.17	17.15	13.42	51.31	13.80	31.61

IOD は以下のように計算した。

$$\text{Sum}(\text{Level 値} \times \text{それに属する個体数}) / (\text{最大 Level 値} \times \text{全個体数}) \times 100$$

100 でほぼ全葉萎凋または全根肥大。萎凋の Level 値は 0~2 とした。作付体系の記号は図 1 と同じ。

〔その他〕

研究課題: 高原地帯における現行野菜生産技術の評価と環境保全的生産技術の開発

予算区分: 国際プロ [地域農業]

研究期間: 2002 年度 (2000 ~ 2002 年度)

研究担当者: 山田 盾, Aziz Azirin Asandhi (Research Institute for Vegetables, インドネシア)

9. 中国紅壤丘陵地帯水稻二期作地域におけるアンモニア揮散とその制御

〔要約〕中国湖南省祁陽県においては、水田からのアンモニア揮散ポテンシャルが極めて高い。肥効調節型肥料の適切な利用により、アンモニア揮散による肥料成分の損失と環境負荷を大幅に軽減し、収量の維持向上と減肥の両立が可能となる。

所属	国際農林水産業研究センター・生産環境部			連絡先	029(838)6306		
推進会議名	国際農林水産業	専門	環境保全	対象	維持・管理技術	分類	研究

〔背景・ねらい〕

近年の人口増加と食生活の多様化にともない、中国農業は質的・量的に大きく変化し、環境に対する悪影響が顕在化している。特に集約農業地域においては、施肥にともなう環境への窒素負荷が懸念されている。重要な穀倉地帯のひとつである紅壤丘陵地帯の典型的な水稻二期作地域に位置する湖南省祁陽県を対象に、農業活動にともなう窒素による面源環境負荷の実態を把握するとともに、その軽減技術を開発する。

〔成果の内容・特徴〕

- 慣行の速効性尿素および肥効調節型被覆尿素（早稲：LPS60、晩稲：LP70（40%）+LPS100（60%））を用い、それぞれ水稻一作あたり慣行水準の 150 kg N ha^{-1} およびその半量の 75 kg N ha^{-1} を湛水後に施肥し、その他条件を同一とした試験区（順に、速効 150 区、75 区、肥効調節 150 区、75 区）を 3 反復で設定する。各試験区からのアンモニア揮散ポテンシャルをオープンチャンバー法により測定し、その他指標データをモニタリングする。
- 早稲・晩稲作付期の積算アンモニア揮散ポテンシャルは、速効 150 区で施肥量の 35% に達するが、速効 75 区、肥効調節 150 区および肥効調節 75 区ではそれぞれ 21、11 および 10% に軽減される（図 1 上）。
- 速効区では、施肥後約 1 週間、田面水中の高アンモニア態窒素濃度（図 1 中）および高 pH（図 1 下）が観察される。これは、同区で高いアンモニア揮散ポテンシャルが観察された時期と一致する。
- 肥効調節 75 区では、速効 150 区と有意差のない収量が得られ、肥効調節 150 区（晩稲期に、いもち病および紋枯病が多発した）に優った（図 2）。
- 肥効調節型肥料の適切な利用により、速効性尿素を施用した対象地水田において認められた極めて高いアンモニア揮散ポテンシャルを大幅に引き下げ、収量の維持向上と減肥を両立できるといえる。

〔成果の活用面・留意点〕

- 非アルカリ性土壌を主体とする我が国では、アンモニア揮散は特殊な例を除き無視できるものとして注目されてこなかったが、同じ非アルカリ性土壌（pH（ H_2O ）6.5）の対象地水田において極めて高いアンモニア揮散ポテンシャルが確認された。両者における肥培管理・水管理法や土壌環境等の違いに着目することで、環境負荷軽減のための新たな研究展開が期待できる。
- 肥効調節型肥料の利用によりアンモニア揮散を軽減可能であることが初めて明らかとなった。現地で容易に利用可能なその他の緩効性肥料として堆きゅう肥等が挙げられるが、これらの草地への施用がアンモニア揮散を増大させたという報告例もある。水田においては、これら緩効性肥料の施用効果について十分な検討がなされてきたとはいえず、環境負荷軽減のための新たな研究展開が期待できる。
- 肥効調節型肥料の中国での普及を図るには、経済的な視点からの評価も必要となる。
- オープンチャンバー法によるアンモニア揮散の測定（本研究における流速は、国際標準と考えられる毎分チャンバー体積の 15 倍以上とした）では、厳密には実揮散速度ではなく、揮散ポテンシャルが求められる。

〔具体的データ〕

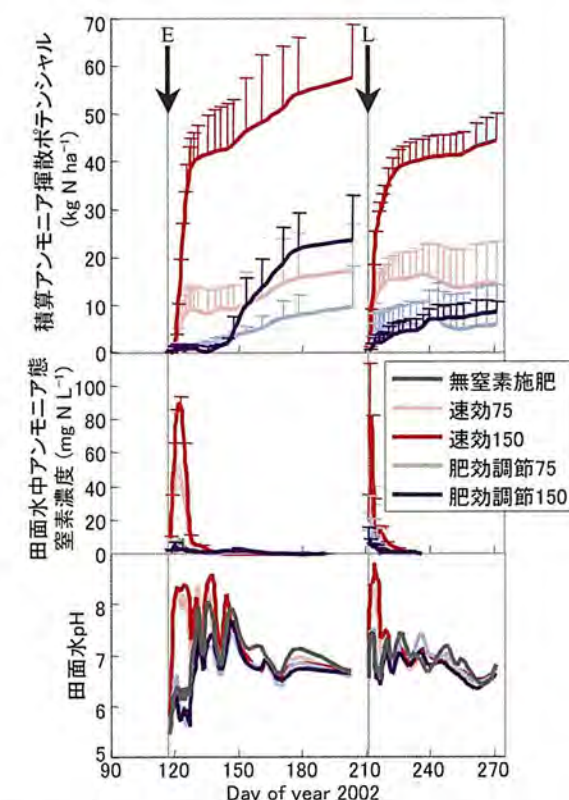


図 1 積算アンモニア揮散ポテンシャル（上図）（各値は無窒素対照区の値を差し引いたもの）、田面水中アンモニア態窒素濃度（中図）、および田面水 pH（下図）。測定は日没前後に行った。早稲移植・施肥（4月26日）；L：晩稲移植・施肥（7月30日）。バーは3反復の標準偏差（田面水 pH は 3 反復の平均値のみ）。

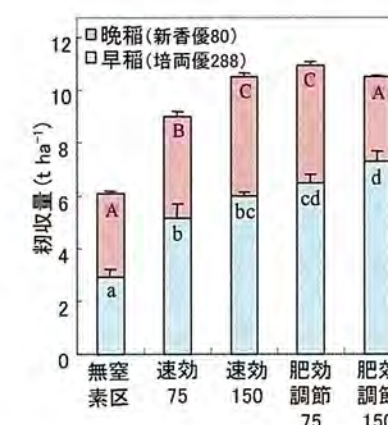


図 2 2002年早稲・晩稲収量結果。バーは3反復の標準偏差。異なるアルファベット間には5%危険率で有意差あり（t検定；各作付毎の比較）

〔その他〕

研究課題名：中国における環境保全型農業生産技術の評価と開発

予算区分：国際プロ〔中国食料資源〕

研究期間：2002年度（1997～2003年度）

研究担当者：宝川靖和、八木一行（農環研）、徐明崗（中国農科院土壤肥料研究所）、李冬初（中国農科院紅壤実験站）、秦道珠（中国農科院紅壤実験站）、申華平（中国農科院紅壤実験站）、李菊梅（中国農科院土壤肥料研究所）

発表論文等：

- Xu, M., Zou, C., Qin, D., Yagi, K. and Hosen, Y. (2002): Transformation and utilization of nitrogen in paddy soil under combining chemical and organic fertilizers application. *Acta Pedologica Sinica*, 39, 421-426.
- Xu, M., Qin, D., Zou, C., Hosen, Y. and Yagi, K. (2002): Characteristics of nitrogen supply from paddy soil in red soil hilly regions of Southern Hunan. *Soil and Environment*, 11, 50-52.
- Xu, M., Qin, D., Yagi, K., Hosen, Y., Li, D. and Li, J. (2002): Ammonia volatilization in paddy soil and rice yield under different chemical fertilizers combining with manure applied in red soil regions of Southern China. *Proceedings of the Workshop on Evaluation and Development of Methods for Sustainable Agriculture and Environmental Conservation*, March 2002, Beijing, 5, 75-83.
- Xu, M., Qin, D., Zou, C., Yagi, K. and Hosen, Y. (2001): MEISTER, its ecological benefits and rational application in two rice agricultural system in Southern China. *Abstracts of the World Fertilizer Congress*, August 2001, Beijing, 12, 88.
- 宝川靖和、八木一行、徐明崗、秦道珠、鄒長明、庄子貞雄（2001）：中国湖南省祁陽県水稻二期作集水域における窒素循環とその制御—肥料種、施肥法、栽植密度の影響。日本土壌肥料学会講演要旨集，47：217

10. ブラジルの亜熱帯サバンナ（セラード）に生育する熱帯イネ科牧草の窒素利用特性

〔要約〕ブラジル亜熱帯サバンナ（セラード）で主に栽培されているイネ科牧草の *Brachiaria decumbens*、*B. brizantha* は窒素反応性が高い。また *B. humidicola* は根の窒素吸収能力が高いため、低窒素環境での栽培に適している。

所属	国際農林水産業研究センター・生産環境部			連絡先	029(838)6355		
推進会議名	国際農林水産業	専門	土壌肥料	対象	牧草	分類	研究

〔背景・ねらい〕

ブラジル亜熱帯サバンナ（セラード）の土壌は肥沃度が低く、低窒素がイネ科熱帯牧草の主要な生育制限要因の一つとなっている。したがって、土壌および施肥窒素に対する牧草の適応機構の種間差を解明し、このような土壌に適した草種を明らかにすることは重要である。また、この地域において主に *Brachiaria brizantha* (BB)、*B. decumbens* (BD)、*B. humidicola* (BH) の3種が栽培されており、これら牧草の窒素栄養に関する生理学的知見は極めて少ない。これらの熱帯イネ科牧草の窒素吸収とその利用を明らかにする。

〔成果の内容・特徴〕

1. BD、BB、BH を供試し、ポットにて3段階の窒素施肥（0, 50, 150 kgN/ha 相当、以後各処理区を 0N, 1N, 2N 区と略す）をおこない栽培した。その結果、BB、BD は窒素施肥反応性が高く施肥量の低下にともない乾物重は低下する（図1）。BH の窒素施肥反応性は他の牧草種と比較して小さく、施肥窒素量の減少にともなう乾物重の低下は大きくない。このことから BH は他の牧草種より低窒素環境下での栽培に適している。また、その時の 0N 区の植物体の相対窒素吸収速度（RAR）は BH で他の牧草種より高い（図2）。
2. 無窒素施肥の圃場において栽培した *Panicum maximum* (PM)、BB、BD、BH の窒素固定による植物体窒素への寄与率（%Ndff）を ^{15}N 自然存在比法を用い推定した。その寄与率は 9-27% であり、BH で BB、BD より低い（表1）。つまり、BH で他の牧草種より土壌窒素に依存している。
3. 植物の窒素吸収速度はミカエリス・メンテンの式（式1）に従うことが知られており、この式を用い各牧草種の根の窒素吸収のカイネティック解析を行った。BH で Km 値が他の牧草種より低い（表2）。このことは BH が硝酸態窒素に対して親和性が高く、低窒素濃度下でも窒素を吸収する能力が高いことを示す。

〔成果の活用面・留意点〕

ブラジル亜熱帯サバンナ（セラード）地域における低養分環境下に適応した牧草の品種改良のための生理学的特性として利用できる。また、肥沃度が異なるセラード牧草地の土壌に適応した牧草の選択指針として参考になる。

〔具体的データ〕

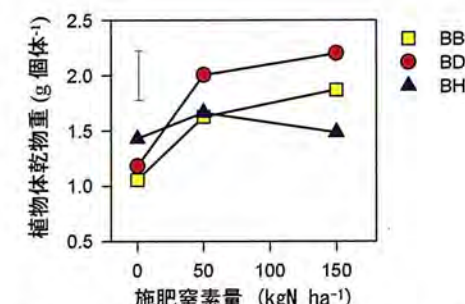


図1 施肥窒素量に対する相対乾物重の変遷
エラーバーはLSD (5%) 水準を示す。

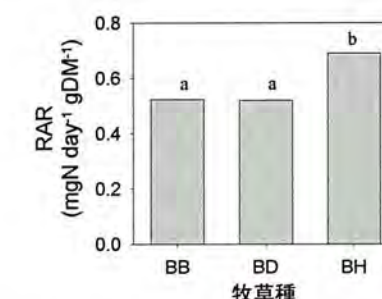


図2 0N 区の植物体の相対窒素吸収速度 (RAR)
図中の同じ英小文字は 5%水準で有意差がないことを示す。

表1 熱帯イネ科牧草の窒素固定量の推定

	窒素含有率 (mgN g⁻¹ DM)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	%Ndff (%)
BB	13.5	5.7 ^a	26.8 ^b
BD	11.4	6.0 ^a	24.0 ^b
BH	8.7	7.0 ^b	9.2 ^a
PM	12.1	7.9 ^b	

1998年11月より2000年4月まで(雨期2回、乾期1回)のサンプリングにおける結果の平均値を示す。また、 $\delta^{15}\text{N}$ は窒素自然同位体比を示す。PMをリファレンスとして植物体全N集積量に占める空中由来Nの割合(%Ndff)を計算した。草種間の同じ英小文字は5%水準で有意差がないことを示す。

式1

$$v = \frac{V_{\max} \times C}{K_m + C}$$

v: 硝酸態窒素吸収速度
Vmax: 最大硝酸態窒素吸収速度
Km: ミカエリス・メンテン定数
C: 溶液中の硝酸態窒素濃度

表2 硝酸態窒素吸収におけるカイネティックパラメーター

	BB	BD	BH
Vmax (μmol m⁻² h⁻¹)	152.4 ^a	146.4 ^a	160.6 ^a
Km (μM)	11.2 ^b	7.5 ^b	4.4 ^a

草種間において同じ英小文字は5%水準で有意差がないことを示す。

〔その他〕

研究課題名：持続型農牧輪換システムにおける熱帯牧草および作物の養分吸収・利用特性の解明—熱帯牧草および作物の窒素吸収および利用—

予算区分：国際プロ〔農牧輪換〕

研究期間：2002年度（2000～2002年度）

研究担当者：中村卓司、菅野勉（東北農研）、大脇義成（中央農研）、C. H. B. Miranda（ブラジル農牧研究公社肉牛研究センター）

発表論文等：

- 1) 中村卓司ら（2002）：ブラジルの亜熱帯サバンナ（セラード）に生育する熱帯イネ科牧草（*Brachiaria* 属牧草）の窒素利用特性．日本土壌肥料学会誌，73，421-425.
- 2) Nakamura, T. et al. (2002): Different nitrogen uptake kinetics of ammonium and nitrate in *Brachiaria* spp. Proceedings of the XXV Reuniao Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutricao de Plantas, September 2002 Rio de Janeiro, RJ, Brazil, 97.
- 3) Nakamura, T. et al. (2002): Nitrogenio e crescimento de gramineas forrageiras introduzidas nos Cerrados. (Effect of different nitrogen conditions on the growth of major grasses in Cerrado.) Proceedings of Simposio Ecologia e Biodiversidade do Cerrado, June 2002 Brasilia, DF, Brazil, 11-12.

11. ベトナム・カントー省における農業開発に伴う窒素フローの変動予測

〔要約〕メコンデルタのカントー省において作成された農業開発計画を基に、農業生産に関する窒素フローを推定すると、2010 年には家畜糞尿として発生する窒素が 59kgN/ha/year と 1999 年の 3 倍以上に増加する。

所属	国際農林水産業研究センター・生産環境部			連絡先	029(838)6355		
推進会議名	国際農林水産業	専門	資源利用	対象	現象解析技術	分類	行政

〔背景・ねらい〕

メコンデルタにおいては、稲作作付け回数の増加、家畜、魚およびエビの生産の増加等によるファーマーミングシステムの変化にともない地域における養分サイクルが大きく変動している。しかしながら、物質循環の面から見た農業生産活動の持続性については評価がなされていない。メコンデルタのカントー省においては、2010 年に向けた農業開発計画が公表されている（表）。そこで同省を対象に、計画が達成された場合の 2010 年における窒素フローを推定し、1999 年のそれと比較を行い、地域の窒素循環がどのように変動するのかを評価する。

〔成果の内容・特徴〕

- 2010 年には畜産と水産養殖が拡大する一方で、省内で生産される飼料の供給が増加する需要を満たすことができないために、飼料の多くを省外からの移入に依存しなければならない。家畜の飼養頭数が大幅に増えることから、農地あたりの糞尿発生量は 19kgN/ha/year（1999 年）から 59kgN/ha/year（2010 年）と 3 倍強に増える（図）。
- 何の対策も講じられない場合、多くの家畜糞尿は未処理のまま河川・水路に投棄される可能性が高い。窒素自体の負荷量は日本で畜産の盛んな南九州等と比較してかなり少ないものの、すでにカントー省では大腸菌やサルモネラ等の微生物による公共水域の汚染が顕在化しており、家畜糞尿対策を早急に取り組むことが必要である。加えて、養殖に伴う廃水にも注意していくことが必要である。
- 農地における窒素収支は、1999 年で 39kgN/ha/year と推定された。収支がマイナスになるアフリカ諸国や東北タイ、大幅に過剰になる中国や南九州と比べて、カントー省の農地における窒素収支は比較的良い状況にある。家畜糞尿を農地に還元し水質汚染を防止しながら化成肥料の投入量を低減することが望ましい。

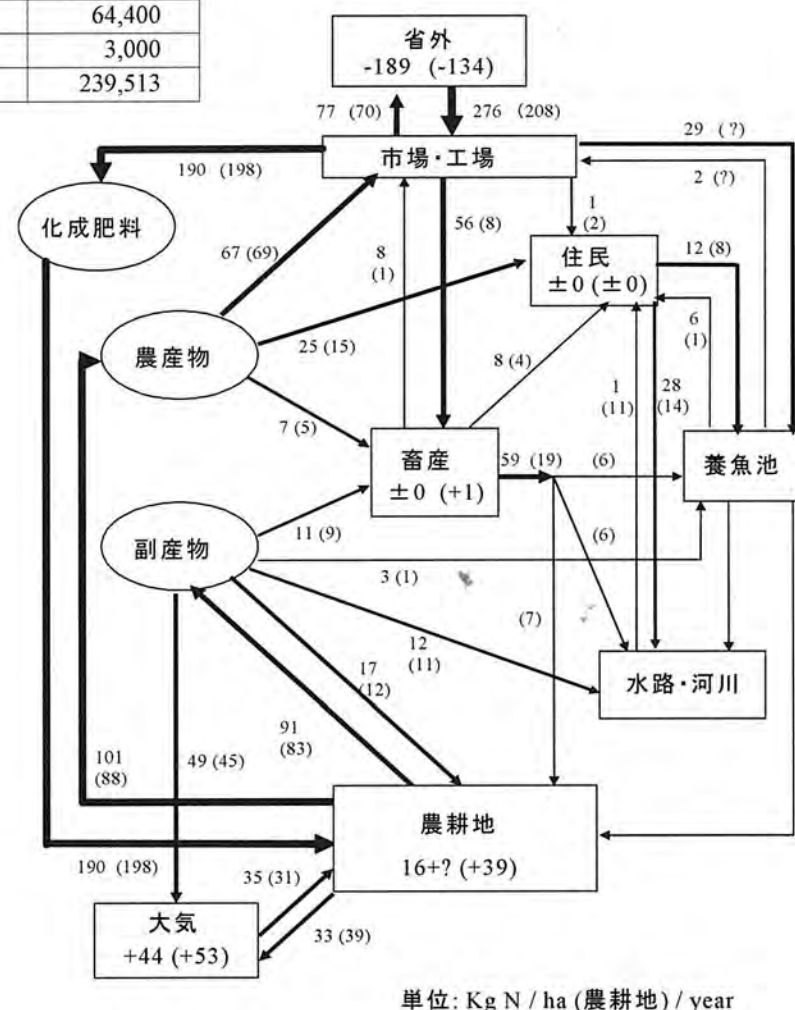
〔成果の活用面・留意点〕

- 本手法で得られる結果は、農業開発計画が達成された場合のカントー省における窒素循環の変化を予測し、農業生産活動による環境劣化を未然に防止するための行政的対応の策定に活用できる。
- 家畜糞尿および養殖廃水が河川・水路といった公共水域に廃棄されないようにすることが重要である。家畜糞尿については、堆肥化による農地還元とバイオダイジェスター（家畜糞尿などから嫌気発酵によりバイオガスを生産する装置）を活用して、その発酵液の農地還元を普及していく必要がある。

〔具体的データ〕

表：カントー省の主な農業統計（2010 年のそれは農業開発計画の目標値）

項目	単位	1999 年	2010 年
豚	千頭	243	700
乳牛	千頭	0	23
家禽	千羽	2,940	6,000
魚	トン	8,040	64,400
エビ	トン	60	3,000
農地	ha	249,995	239,513



図：カントー省の窒素フロー（2010 年と 1999 年）

注：カッコ内は 1999 年の窒素フロー、2010 年における家畜糞尿の行き先については今後の対策次第で変わるので推定していない。

〔その他〕

研究課題名：メコンデルタの地域における窒素等物質循環の評価

予算区分：国際研究〔メコンデルタ〕

研究期間：2002 年度（1999 ～ 2003 年度）

研究担当者：渡辺武、南雲俊之（北海道大学）、Ngo Ngoc Hung（ベトナム・カントー大学）

発表論文等：Watanabe, T. (2002): Estimation of nitrogen flow in Can Tho province in 2010. Proceedings of the 2002 annual workshop of JIRCAS Mekong Delta Project, November 2002, Cantho, Vietnam, 249-257.

12. ブラジルダイズの干ばつ耐性特性

[要約] 開花後1ヶ月間の雨よけ処理条件下で高い収量を示す干ばつ耐性の強いブラジルダイズ品種は、雨よけ処理期間における相対生長率を高く維持できる特性を有しており、それは葉面積比ではなく、純同化率を高く維持することによる。

所属	国際農林水産業研究センター・生産環境部				連絡先	029(838)6355		
推進会議名	国際農林水産業	専門	栽培	対象	だいず	分類	研究	

[背景・ねらい]

干ばつは南米での大豆生産の最も大きな制限要因のひとつであり、とくに生殖生長期の干ばつによる収量低下が著しい。ブラジル南部で主に栽培されるダイズ品種を用いて、生殖生長期の干ばつを、雨よけ処理によって人工的に作り、品種の干ばつ耐性を収量を指標として評価する。さらに、干ばつ耐性に関わる生理・形態学的特性を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 開花後1ヶ月間、雨よけ装置 (rain out shelter) を用いて人工的に干ばつ条件を作ることによって、収量を指標としたブラジルダイズ 10 品種の干ばつ耐性を2年間にわたり評価したところ、収量の品種間順位は年次間変動が小さく、安定していた (相関係数 $r=0.78$ 、1%有意、図 1)。また、品種間順位は、ポテンシャル収量を表すと考えられる灌漑区での順位と異なることから、干ばつ耐性の強さそのものを検出できる。
2. 収量から見て、供試したブラジルダイズ 10 品種のうち、BRS183 は干ばつ耐性の強い品種、BR-16、Embrapa59、BRS134 は干ばつ耐性の弱い品種である (表 1)。
3. 収量を指標とした干ばつ耐性は、開花後1ヶ月間の干ばつ期間の相対生長率とよく対応している (表 1、表 2)。
4. 干ばつ期間の葉面積比に品種間差は見られず、相対生長率の違いは純同化率の違いを反映している (表 2)。
5. 干ばつ耐性の強い品種 BRS183 は、干ばつ期間における根重が他の品種と比べて大きい傾向があり、干ばつ耐性の弱い品種 BR-16、Embrapa59、BRS134 は、他の品種と比べて小さい傾向があった (図 2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 干ばつ耐性の強い品種の選抜に、開花後1ヶ月間の干ばつ条件下での相対生長率を指標として用いることができる。
2. 収量を指標とした干ばつ耐性は、他の時期に起こる干ばつ時の相対生長率とは必ずしも関係しない可能性があることに留意する。

[具体的データ]

表 1 ブラジルダイズ 10 品種の収量

No.	品種	子実収量 (t ha^{-1})	
		1999/2000	2000/2001
1	BR-16	1.01	1.38
2	BR-37	1.24	1.76
3	Embrapa 48	1.07	1.72
4	Embrapa 59	0.86	1.34
5	BRS 132	1.05	1.68
6	BRS 133	1.08	2.02
7	BRS 134	1.06	1.20
8	BRS 183	1.23	2.38
9	BRS 184	1.10	1.99
10	BRS 185	0.88	1.57
LSD(5%)		0.70	0.84

開花後1ヶ月間、雨よけにより、降雨をシャットアウトする処理を加えた。

干ばつ耐性品種を青色、感受性品種を赤色で示した。

表 2 干ばつ期間におけるブラジルダイズ 10 品種の生長解析結果 (1999/2000)

No.	品種	相対生長率	純同化率	葉面積比
		$\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$	$\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$	$\text{m}^2 \text{g}^{-1}$
1	BR-16	0.015	1.3	0.012
2	BR-37	0.035	3.1	0.012
3	Embrapa 48	0.006	0.6	0.010
4	Embrapa 59	0.010	0.8	0.012
5	BRS 132	0.030	2.8	0.011
6	BRS 133	0.034	2.9	0.012
7	BRS 134	0.019	1.6	0.012
8	BRS 183	0.046	3.9	0.012
9	BRS 184	0.031	2.7	0.011
10	BRS 185	0.031	3.0	0.011

開花後1ヶ月間、雨よけにより、降雨をシャットアウトした。

相対生長率=純同化率×葉面積比

干ばつ耐性品種を青色、感受性品種を赤色で示した。

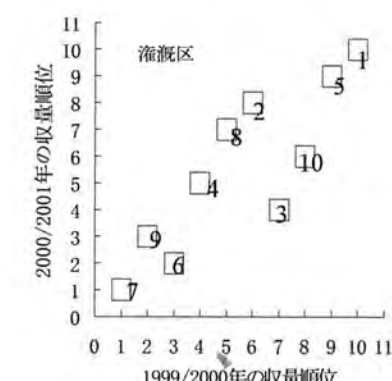
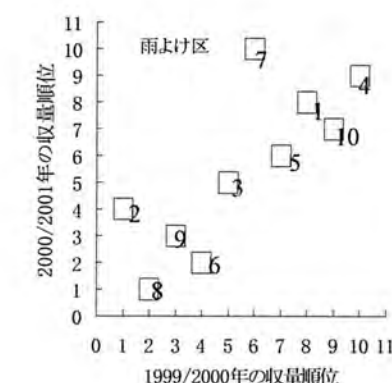


図 1 ブラジルダイズ 10 品種の収量順位の安定性

雨よけ区では、開花後1ヶ月間、雨よけにより、降雨をシャットアウトした。表1にある品種の番号を図中に示した。

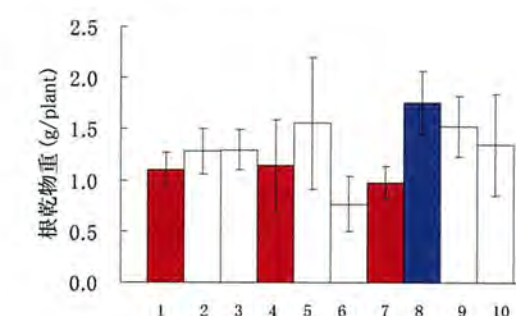


図 2 開花 20 日後の根の乾物重 (2000/2001) 3 反復の平均値±標準偏差

品種は、表 1、表 2 で表されている番号で示した。
干ばつ耐性品種を青色、感受性品種を赤色で示した。

[その他]

研究課題：大豆の干ばつ耐性検定法の開発

予算区分：国際プロ [南米大豆]

研究期間：2002 年度 (1999 ~ 2002 年度)

研究担当者：大矢徹治、Nepomuceno, A.L., Neumaier, N. and Farias, J.R.B. (Embrapa 大豆研究センター, ブラジル)

発表論文等：Oya, T., Nepomuceno, A.L., Neumaier, N. and Farias, J.R.B. (2002): Agronomic and physiological responses of Brazilian soybean cultivars to drought stress during the period of early reproductive stage. Jpn. J. Crop Sci., 71(Extra issue 2), 234-235.

13. 熱帯対応型サイレーシ乳酸菌を評価するための実験モデル

〔要約〕長さ約 2cm に切断し、乾燥した後に高圧蒸気滅菌した熱帯牧草ネピアグラス（水分および糖含量を調整）の一定量をプラスチック袋に入れ、酵母およびコリ型細菌と評価すべき乳酸菌とを接種してから密封して培養する簡易なサイレーシ醗酵実験モデル（改良パウチ法）は、タイでのサイレーシ調製用乳酸菌を評価するための手法として有効である。

所属	国際農林水産業研究センター・畜産草地部				連絡先	029 (838) 6365	
推進会議名	国際農林水産業	専門	調製加工	対象	乳用牛	分類	研究

〔背景・ねらい〕

タイでは近年、都市部を中心に生乳および醗酵乳の消費が急増し、生鮮乳生産は需要量の約 60% ではない。これは、乳用牛の低い泌乳能力もさることながら、タイの酪農歴史の浅さに基づく未熟な飼養管理技術とその酪農家への技術普及の遅速さが原因のようである。一般的には粗飼料として生草類や稲わらを給餌して約 3,100Kg を搾乳しているが、実験農場や先鋭的酪農家集団は良質サイレーシの通年給餌によって 4,200 ~ 4,500Kg を記録している。しかし、サイレーシ調製は必ずしも容易ではなく、期待は大きいものの普及していない。その原因の一つは乳酸菌の能力に基づく調製過程の不十分な乳酸醗酵にある。

そこで、タイでのサイレーシ調製に適した優良乳酸菌を検索するため、先に筆者らが考案した乳酸菌評価用のパウチ法を熱帯対応型に改良したサイレーシ醗酵実験モデルを構築する。

〔成果の内容・特徴〕

1. タイで調製された代表的サイレーシの微生物叢をしらべた。牧草サイレーシ（バンカーサイロ）は相対的に細菌類および酵母が多く、酪酸菌と乳酸菌は少なかったが、コーンサイレーシ（バックサイロ）では乳酸菌と一般細菌が多く、腸内細菌、酵母、カビが少なかった（表 1）。
2. 酵母および細菌類の増殖を抑制する乳酸菌をサイレーシ醗酵適性株と規定し、適性株を検索するためのサイレーシ醗酵実験改良モデルを構築した。本モデルはネピアグラス培地（水分含量 75%、糖含量 1.5% に調整）にサイレーシから分離した酵母、コリ型細菌を評価すべき乳酸菌とともに接種し、吸引・密封して培養することを特徴とする。
3. 培養温度は熱帯地域の野外での調製・貯蔵を考慮して 45℃ とする。
4. 改良モデルは接種菌数が重要である。例えば、分離した乳酸桿菌 LG2-1 株を他の 10^3 倍量接種すると乳酸菌の増殖が優占してコリ型細菌の増殖を抑制するが、同じ分離株でも乳酸球菌 N-22 株の接種では培養初期に菌数が急増するものの、その後は急減して他の微生物の増殖を抑制することもない（表 2）。
5. LG2-1 株と N-22 株とを 10^5 cfu/g 混合接種すると醗酵初期から乳酸菌数を高位に保つことができ、その後の pH 低下と相まって良質サイレーシの調製が期待できる。
6. 本法は多数の菌株を簡便・迅速に検索することがでる。

〔成果の活用面・留意点〕

1. 本評価法は、熱帯地域での良質サイレーシ調製に不可欠な熱帯対応型乳酸菌を簡便・迅速に検索する手法として有効であり、追試も容易である。
2. 十分な嫌気条件や糖類の供給などの基本的なサイレーシ調製技術が確保されない時には、添加する乳酸菌が優秀であっても良質サイレーシの調製には至らないことに注意しなければならない。

〔具体的データ〕

表 1 タイで調製された代表的サイレーシの微生物菌数

サイレーシ ¹⁾	サイレーシ		微生物の菌数 ²⁾				
	pH	水分含量(%)	一般細菌	乳酸菌	酵 母	カビ	腸内細菌
SS 1	7.71	60.4	5.0×10^6	< 10	6.0×10^4	2.0×10^4	9.0×10^3
SS 2	4.35	48.8	9.0×10^4	2.0×10^6	4.0×10^5	2.0×10^4	1.3×10^3
CS 1	3.82	78.0	5.1×10^6	3.3×10^6	5.4×10^4	< 10	< 10
KS 1	5.10	28.1	4.6×10^7	2.8×10^7	2.0×10^2	1.1×10^3	< 10

¹⁾ SS: バンカーサイロに調製されたルージーグラスサイレーシで、SS1 は表面から、SS2 は表面から約 50cm の内部から採取。CS1、KS1: トランスバックに調製したコーンサイレーシ。表面から約 50cm の内部から採取。

²⁾ 菌数はグラムあたりの個数 (cfu/g) で示す。一般細菌は Nutrient broth agar 培地で、乳酸菌は Lactobacilli MRS 寒天培地で、酵母とカビは Potato-Dextrose 寒天培地で、腸内細菌は Violet red bile 寒天培地で計数。

表 2 代表的サイレーシ微生物の増殖に及ぼす接種菌数の影響

接種菌数 ¹⁾			培地 乳酸桿菌 ²⁾ 培養後の菌数				培地 乳酸球菌 ³⁾ 培養後の菌数			
乳酸菌	細菌	酵母	pH	乳酸菌	細菌	酵母	pH	乳酸菌	細菌	酵母
10 ²	10 ²	10 ²	5.69	1.1 × 10 ⁶	1.2 × 10 ⁶	1.1 × 10 ⁶	5.89	1.0 × 10 ⁵	<u>1.1 × 10⁶</u>	1.0 × 10 ⁶
			5.47	2.8 × 10 ⁶	3.2 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	5.59	1.0 × 10 ⁵	9.0 × 10 ⁵	1.0 × 10 ⁵
<u>10⁵</u>	10 ²	10 ²	5.69	<u>3.2 × 10⁷</u>	2.0 × 10 ⁵	1.0 × 10 ⁶	5.79	<u>1.9 × 10⁸</u>	1.3 × 10 ⁶	7.0 × 10 ⁵
			5.34	<u>1.2 × 10⁸</u>	2.2 × 10 ⁶	4.0 × 10 ⁶	5.66	5.0 × 10 ⁵	1.2 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁵
10 ²	<u>10⁵</u>	10 ²	5.86	1.1 × 10 ⁶	<u>2.8 × 10⁷</u>	1.0 × 10 ⁶	5.91	1.0 × 10 ⁵	<u>7.8 × 10⁷</u>	1.0 × 10 ⁶
			5.55	2.0 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	2.4 × 10 ⁶	5.44	1.0 × 10 ⁵	8.0 × 10 ⁴	2.0 × 10 ⁵
10 ²	10 ²	<u>10⁵</u>	5.51	1.2 × 10 ⁶	<u>3.2 × 10⁷</u>	<u>2.4 × 10⁷</u>	5.77	4.4 × 10 ⁷	<u>6.0 × 10⁷</u>	1.4 × 10 ⁷
			5.52	2.8 × 10 ⁶	<u>1.0 × 10⁸</u>	<u>1.5 × 10⁸</u>	5.55	2.8 × 10 ⁵	<u>6.2 × 10⁷</u>	9.2 × 10 ⁶

菌数はグラムあたりの個数 (cfu/g) で示す。アンダーラインは優占微生物を示す。

¹⁾ 細菌は *Enterobacter* sp. SG1-1T 株、酵母は *Saccharomyces cerevisiae* SG2-1Y 株を接種。

²⁾ 乳酸桿菌 (*Lactobacillus* sp.) LG2-1 株を接種。上段は培養 6 時間後、下段は 24 時間後の菌数。

³⁾ 乳酸球菌 N-22 株を接種。上段は 6 時間後、下段は 24 時間後の菌数。

〔その他〕

研究課題：タイ国における農業・農産物への乳酸菌の応用に関する研究

予算区分：国際プロ〔乳酸菌応用〕

研究期間：2002 年度（2000 ~ 2003 年度）

研究担当者：大桃定洋、Sunee Nitisinprasert（カセサート大学、タイ）、Supanit Hiranpradit（タイ農業局）

発表論文等：

- 1) Ohmomo, S., Nitisinprasert, S. and Hiranpradit, S. (2002): Silage- making and recent trend of dairy farming in Thailand. JARQ, 36(4), 227- 234.
- 2) Ohmomo, S., Tanaka, O., Kitamoto, H. K. and Cai, Y. (2002): Silage and microbial performance, old story but new problem. JARQ, 36(2), 59- 71.

14.DNA マイクロアレイを用いたマウス肝におけるトリパノソーマ抵抗性候補遺伝子の検出

〔要約〕多数の遺伝子断片をスライドガラス上に固定した DNA マイクロアレイを用い、トリパノソーマ症マウスにおける発現遺伝子を網羅的に調べることににより、トリパノソーマ抵抗性因子の候補遺伝子を検出することができ、マウス肝では 169 遺伝子が候補遺伝子として発現している。

所属	国際農林水産業研究センター・畜産草地部			連絡先	029(838)6308		
推進会議名	国際農林水産業	専門	家畜衛生	対象	実験動物	分類	研究

〔背景・ねらい〕

トリパノソーマ症はアフリカ等に蔓延する家畜および人の原虫性疾患で、当該地域の畜産に対する大きな阻害要因となっている。感染や発病に対する抵抗性が動物の品種あるいは系統により異なることが知られており、抵抗性因子の同定が防除法確立にむけての重要な課題となっている。これまでに、症状や生体変化から特定の因子に着目してその抵抗性との関連を探る解析が進められているが、この手法は抵抗性機構の全貌を解明するには効率的ではない。そこで、多数の遺伝子発現プロファイルを一度に調べることのできる DNA マイクロアレイを作製し、トリパノソーマ抵抗性の異なるマウス系統間における抵抗性候補遺伝子の網羅的な検出を行う。

〔成果の内容・特徴〕

- 7,445 種の遺伝子断片からなる市販マウスオリゴライブラリーをスライドガラス上に固定して、DNA マイクロアレイを作製する。
- C57 マウス（トリパノソーマ抵抗性系統）および AJ マウス（同、感受性系統）にトリパノソーマ原虫を感染させる。組織より RNA を抽出し、赤色あるいは緑色蛍光色素を標識した cDNA を合成する。DNA マイクロアレイと反応させて蛍光強度比を測定することにより、マウス系統間で発現量が異なる遺伝子を検出する（図 1）。
- 原虫感染後 17 日までの、肝における遺伝子発現を解析すると、総計 169 遺伝子の発現量がマウス系統間で異なっている（図 2）。これらの中には、トリパノソーマ抵抗性を決定する因子の有力な遺伝子候補として、急性期蛋白（感染の初期段階に血中に著明に増加する蛋白質）、サイトカイン、細胞内シグナル伝達因子、補体系、転写調節因子、電子伝達系、代謝関連酵素、イオンチャンネル等の蛋白をコードする遺伝子等が挙げられる（表 1 に遺伝子の一例を示す）。

〔成果の活用面・留意点〕

DNA マイクロアレイを用いて肝以外の組織についても解析し、感染経過における発現遺伝子のプロファイルを全て把握する必要がある。また、家畜や人のトリパノソーマ症研究への発展的応用が期待される。

〔具体的データ〕

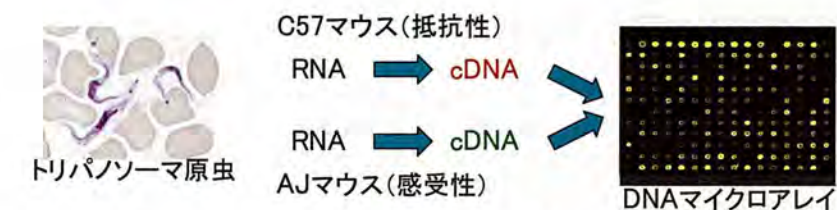


図 1 DNA マイクロアレイを用いた発現遺伝子の比較

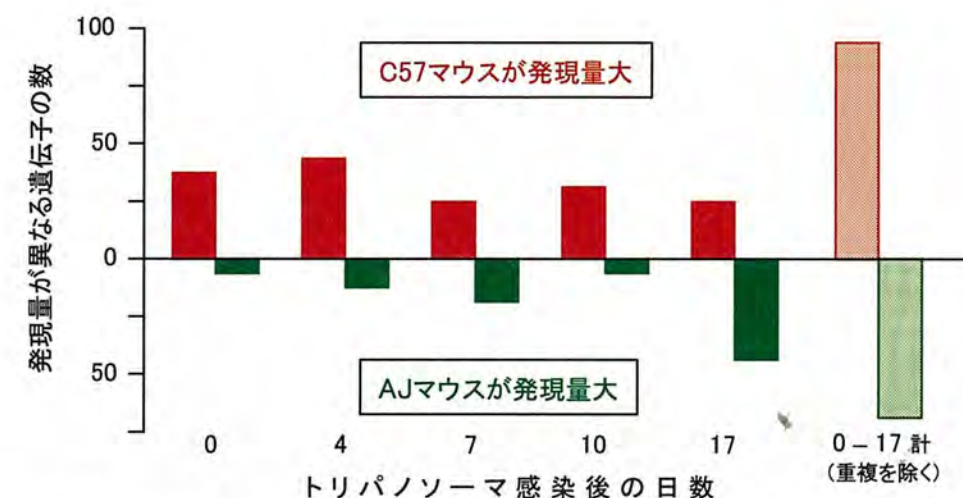


図 2 DNA マイクロアレイを用いて検出された肝における発現量が異なる遺伝子の数

表 1 DNA マイクロアレイを用いて検出された肝における発現量が異なる遺伝子の一例

C57マウスが発現量大

- ・セリンスレオニンキナーゼ25、プレセニン2、インターフェロン活性化因子
- ・インターロイキン2受容体、インターロイキン10関連T細胞由来因子、補体成分5, 9
- ・シトクロムP450 - 2a4, 3a13, 4a12, 7b1、プロスタグランジンD2合成酵素

AJマウスが発現量大

- ・血清アミロイドP、セルロプラスミン、ハプトグロビン、トランスフェリン
- ・ケモカイン CC - 8, 9, 14, 27、ケモカイン CXC - 1, 13、補体分解促進因子
- ・フォスファチジルエタノラミン結合蛋白、アポリポ蛋白A4

〔その他〕

研究課題：トリパノソーマ症の発症機構及び感染抵抗性機構の解明

予算区分：国際プロ〔トリパノソーマ〕

研究期間：2002年度（2000～2002年度）

研究担当者：中村義男、八木行雄（動物衛生研）、木谷裕（生物資源研）、土屋佳紀（動物衛生研）
（国際家畜研究所、リバプール大学、英国医学研究協会との共同研究）

15. ダイズ分子連鎖地図の作製

[要約] ミスズダイズと秣食豆公 503 を両親とする F2 集団 190 個体から作製したダイズ分子連鎖地図は、RFLP マーカー 412 (cDNA マーカー 223、ゲノム DNA マーカー 189)、SSR マーカー 106、AFLP マーカー 218、RAPD マーカー 1、形質マーカー 5 から成る合計 742 マーカー、全長 3,221cM である。

所属	千葉大学園芸学部	連絡先	047(308)8838
推進会議名	国際農林水産業	専門	育種
		対象	だいず
		分類	研究

[背景・ねらい]

分子連鎖地図は農業形質の選抜の効率化・精度向上と形質遺伝子の同定・単離に利用することが出来る。これまでダイズの分子連鎖地図は主にゲノム DNA をプローブとした RFLP に基づき作製され、最近になってそれに SSR マーカーが付け加えられ地図が作製されている。農業形質の選抜には SSR マーカー等の PCR に基づくマーカーが適しているが、形質遺伝子の同定のためには発現遺伝子に由来する cDNA マーカーが有効である。また cDNA マーカーを地図上に位置づけることは gene-rich region を明らかにする上からも重要である。そこで、ミスズダイズと秣食豆公 503 を両親とする F2 集団 190 個体を材料として、cDNA マーカーを用いて作製した連鎖地図上にゲノム DNA に由来する RFLP マーカー、SSR マーカー、AFLP マーカーを位置づけ、農業形質の選抜と遺伝子の同定の両方に適する分子連鎖地図を作製する。

[成果の内容・特徴]

1. ダイズ緑葉由来の cDNA クローン、根粒特異的 cDNA クローンをプローブにした RFLP に基づき、223 の cDNA マーカーを含む分子連鎖地図が得られた。これらのクローンの部分塩基配列から遺伝子の同定を行うことができる。この地図はダイズでは多くの cDNA マーカーが位置づけられた最初の地図である。
2. 地図上に座乗する SSR マーカーは、既に開発されている SSR マーカーと CT をコアとする新規の SSR マーカーの合計 106 マーカーである。
3. この地図の上に更に 218 の AFLP マーカーが位置づけられている。
4. 分子連鎖地図は、ゲノム DNA を用いた RFLP マーカー、RAPD マーカー、形質マーカーを加えて、マーカー総数 742、全長 3,221cM であり、ダイズゲノムのほぼ全域をカバーしていると考えられる。またこの地図は新規の 478 個の DNA マーカーを含んでいる。

[成果の活用面・留意点]

1. 作成した分子連鎖地図は、ダイズの病害虫抵抗性等の農業形質の選抜や育種素材の開発に活用することができる。
2. 本研究で用いた緑葉由来の cDNA クローンは、国内外の大学、研究機関、試験場の要請に応じて配布できる。
3. ひとつの cDNA クローンに対して複数の遺伝子座が対応することがあるので、cDNA マーカーを利用する時には注意が必要である。

発表論文等:

- 1) Yamanaka, N., Nagamura, N., Tsubokura, Y., Yamamoto, K., Takahashi, R., Kouchi, H., Yano, M., Sasaki, T. and Harada, K. (2000): Quantitative trait locus analysis of flowering time in soybean using a RFLP linkage map. *Breed. Sci.*, 50, 109- 115.
- 2) Yamanaka, N., Ninomiya, S., Hoshi, M., Tsubokura, Y., Yano, M., Nagamura, Y., Sasaki, T. and Harada, K. (2001): An informative linkage map of soybean reveals QTLs for flowering time, leaflet morphology and regions of segregation distortion. *DNA Res.*, 8, 61- 72.
- 3) Hossain, K.G., Kawai, H., Hayashi, M., Hoshi, M., Yamanaka, N. and Harada, K. (2000): Characterization and identification of (CT)n microsatellites in soybean using sheared genomic libraries. *DNA Res.*, 7, 103- 110
- 4) Toda, K., Yang, D., Yamanaka, N., Watanabe, S., Harada, K. and Takahashi, R. (2002): A single- base deletion in soybean flavonoid 3'- hydroxylase gene is associated with gray pubescence color. *Plant Mol. Biol.*, 50, 187- 196.
- 5) Nishimura, R., Hayashi, M., Wu, G. J., Kouchi, H., Imaizumi- Anraku, H., Murakami, Y., Kawasaki, S., Akao, S., Ohmori, M., Nagasawa, M., Harada, K. and Kawaguchi, M. (2002): HAR1 mediates systemic regulation of symbiotic organ development. *Nature*, 420, 426- 429.

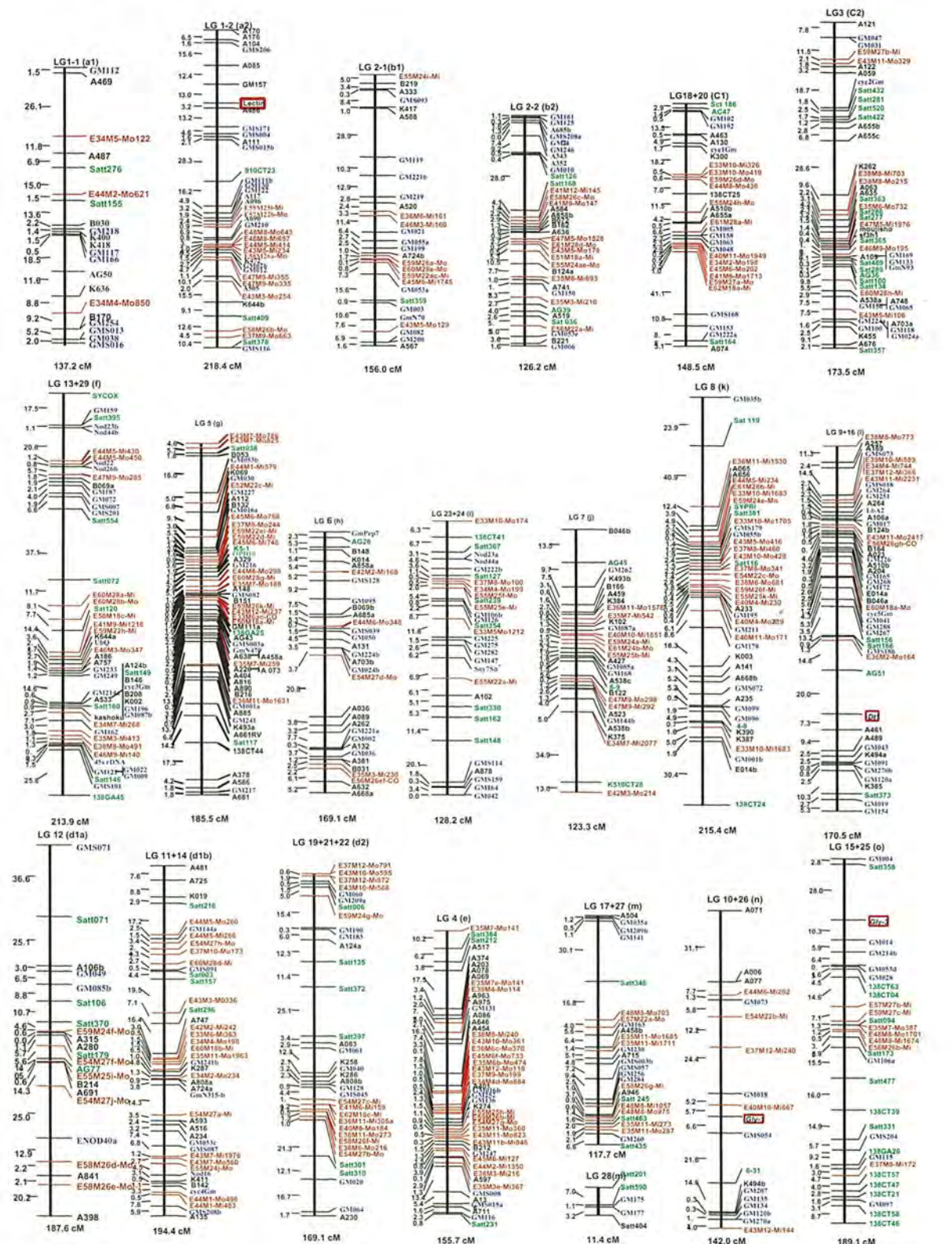


図1 ダイズの分子連鎖地図 (黒;既存の RFLP、青;新規の RFLP、緑;SSR、赤;AFLP、赤囲み;形質の各マーカー)

[その他]

研究課題名: 大豆品種・系統の有用形質の導入技術の開発、大豆の病害虫抵抗性遺伝子に連鎖する DNA マーカーの開発

予算区分: 国際プロ [南米大豆]

研究期間: 2002 年度 (1997 ~ 2002 年度)

研究担当者: 原田久也、山中直樹

16. 香り米における香り成分の生成と水ストレスによる変動

〔要約〕タイの香り米 (Khao Dawk Mali 105) に含まれる香り成分である 2-アセチル-1-ピロリンは、水分ストレス応答物質であるアミノ酸プロリンから生成している。圃場試験において、開花後の水ストレスにより香り成分を増加させることが可能である。

所属	国際農林水産業研究センター・食料利用部				連絡先	029(838)6358	
推進会議名	国際農林水産業	専門	食品品質	対象	水稻	分類	研究

〔背景・ねらい〕

一部途上国では我が国と異なり、ポップコーン様の香りのある香り米が好まれる。香り米の品質はその香りで特徴づけられる。香り米の特徴的な香りの成分は、2-アセチル-1-ピロリンである。

また、タイにおける香り米の生産地域においては、特定の地域で生産した香り米の香りが強く、高品質であり、他地域で生産される香り米の香りは弱い。このことにより、需要が多く見込まれる香り米の他地域での増産が限られており、品質差の原因の解明が望まれている。

そこで、2-アセチル-1-ピロリンの生成機構を解明するため、安定同位体標識アミノ酸を香り米に添加し、標識 2-アセチル-1-ピロリンの生成の有無を検討する。また、得られる生成機構から、圃場試験における香り成分の栽培条件による増加の可能性を検討する。

〔成果の内容・特徴〕

1. 各種アミノ酸を香り米品種 Khao Dawk Mali 105 の植物体に添加すると、プロリンを添加した場合には 2-アセチル-1-ピロリンの濃度が顕著に増加する (図 1)。このことから、アミノ酸が 2-アセチル-1-ピロリンの生成に関与していると考えられる。
2. 窒素 15 標識プロリンを添加すると、同位体標識 2-アセチル-1-ピロリンが生成するが、窒素 15 標識グリシンを添加した場合には生成しないことから、2-アセチル-1-ピロリンの前駆体はプロリンである。しかし、プロリンのカルボニル基を炭素 13 とする標識プロリンを添加すると、同位体標識 2-アセチル-1-ピロリンが生成しない。このことから、2-アセチル-1-ピロリンの 1-ピロリン環はプロリン由来であり、アセチル基はプロリン由来ではないことがわかる (図 2)。
3. タイ・コンケン県の試験圃場において、開花後に水分ストレス処理を行うと玄米中の 2-アセチル-1-ピロリン含量が増加する (図 3)。このことから、開花後の特定の時期に水分ストレスがかかることによって、Khao Dawk Mali 105 の品質が向上することが示唆される。タイ東北部における高品質香り米生産地域では、開花後には水ストレスがかかった状態になるため、高品質香り米が生産される理由を生成機構から説明することが可能である。

〔成果の活用面・留意点〕

香り米の 2-アセチル-1-ピロリンの生成機構を利用して香り米の品質を向上させる場合、開花後に水分ストレスをかける必要があるが、開花後は、稲がストレスに弱い時期であり、収量の低下等が生じる可能性がある。

〔具体的データ〕

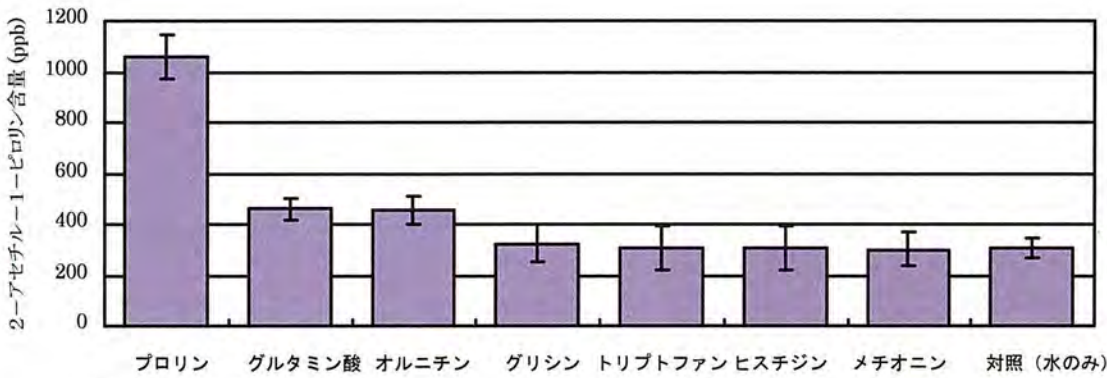


図 1 各種アミノ酸を添加した場合における幼苗の 2-アセチル-1-ピロリン含量

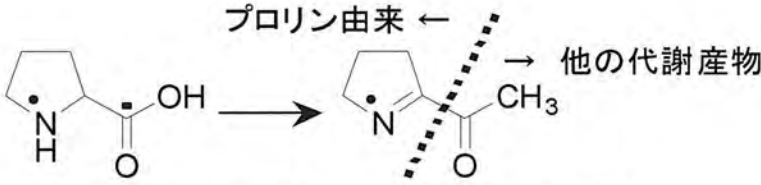


図 2 2-アセチル-1-ピロリンの推定生成経路

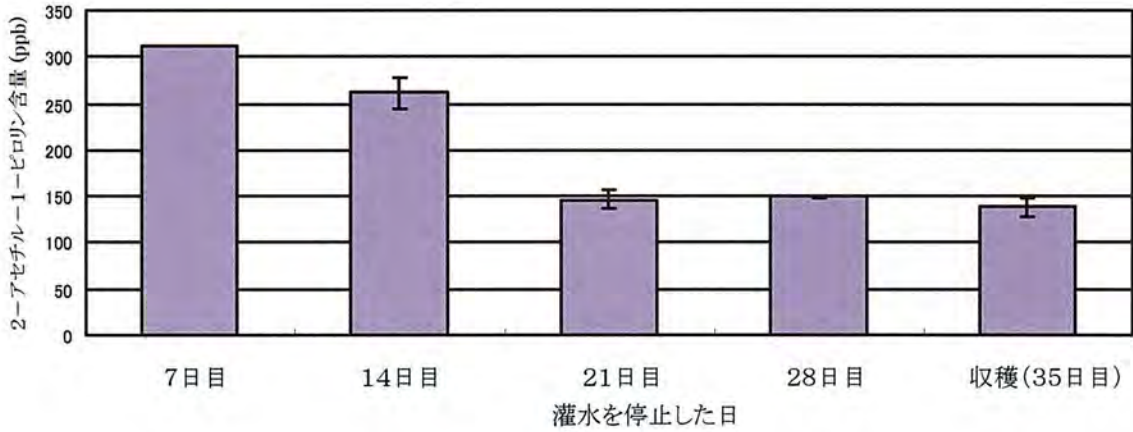


図 3 開花後に灌水を停止した場合における玄米中の 2-アセチル-1-ピロリン含量

〔その他〕

研究課題名：香り米における 2-アセチル-1-ピロリンの生成機構の解明

予算区分：基盤

研究期間：2002 年度 (2001 ~ 2002 年度)

研究担当者：吉橋 忠、梶木信幸 (農研機構・中央農研セ)、Nguyen Thi Thu Huong (筑波フェロー、ベトナム)、稲富秀夫 (明治大学)

発表論文等：Yoshihashi, T.・Nguyen TTH.and Inatomi H. (2002): Precursors of 2-acetyl-1-pyrroline, a potent flavor compound of an aromatic rice variety. J. Agric. Food Chem., 50(7), 2001-2004

17. タイ土着食用植物の抗変異原性と活性成分

〔要約〕タイ土着食用植物ミクロメラム・ミヌタム、モクコチョウ、ハマネナシカズラ、インドセンダン及びリステア・ペティオラータは強い抗変異原性を示す。ミクロメラム及びモクコチョウに含まれる抗変異原活性成分はそれぞれ、マハニン及びバイカレインである。両物質は他に抗菌活性、がん細胞増殖抑制効果等を示す。

所属	国際農林水産業研究センター・食料利用部			連絡先	029(838)6358		
推進会議名	国際農林水産業	専門	加工利用	対象	他の葉茎菜類	分類	国際

〔背景・ねらい〕

変異原物質の働きを抑えることにより発がんのリスクを低減できるとの考えから、抗変異原物質を含む食品素材に大きな関心が寄せられている。タイでは数百種類以上の土着の山野草を含む多様な植物が食用・薬用等に利用されており、これまでの研究から、強い抗変異原物質を含むものが存在する可能性が高い。そこで、タイの土着食用植物の中から抗変異原性の強いものを見出して、成分を同定し、利活用の拡大を図ることをねらう。

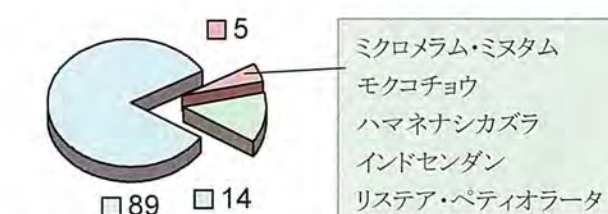
〔成果の内容・特徴〕

- 108 種のタイ土着食用植物の中で、ミクロメラム・ミヌタム (*Micromelum minutum*、ミカン科)、モクコチョウ (*Oroxylum indicum*、ノウゼンカズラ科)、ハマネナシカズラ (*Cuscuta chinensis*、ヒルガオ科)、インドセンダン (*Azadirachta indica*、センダン科) 及びリステア・ペティオラータ (*Litsea petiolata*、クスノキ科) の 5 種の食用植物のメタノール抽出物が特に強い抗変異原活性 (エームス試験法) を示す (図 1)。
- ミクロメラム・ミヌタム (新葉) に含まれる主要な抗変異原成分はカルバゾールアルカロイドの一種であるマハニンである (図 2)。マハニンは、インド周辺諸国でカレー料理に用いられているスパイスの 1 つカレーリーフから見つかった他は、あまり知られていない。
- マハニンは、抗変異原活性以外にも多様な生理機能性を示す (表 1)。
- モクコチョウ (果実) に含まれる主要な抗変異原成分はフラボンの一種であるバイカレインである (図 3)。バイカレインは他に抗菌活性、がん細胞増殖抑制活性を示す。

〔成果の活用面・留意点〕

- マハニン、バイカレインともに水に溶けにくい物質であるが、現地では茹でたり、あるいは搾りおろしたりするなど野菜自体を食べているため摂取可能である。
- 人体への吸収、代謝などを検討し、実際に生体で機能性が発現するか否かを確かめる必要がある。

〔具体的データ〕



- グループA (非常に強い活性)
 □ グループB (強い活性)
 □ グループC (弱い活性・活性なし)

図 1 タイ土着食用植物の抗変異原活性分布
 グループ A は 0.1mg 乾物当量以下、グループ B は 0.1 ~ 1.0mg 乾物当量の植物抽出物により、突然変異を 90% 阻害する (エームス試験法)。グループ C は 1.0mg 当量で 90% 以下の阻害しか見られないもの。数値は、各グループに含まれる野菜の種類。温帯野菜のほとんどはグループ C に分類される。例えば、我が国の野菜の中で抗変異原性が比較的高いホウレンソウの場合、90% 阻害するのに必要な量は数十 mg である。

表 1 マハニンの様々な生理機能性

- ・抗変異原活性 (エームス試験法)
- ・チトクロム P450 酸素添加酵素の阻害
- ・がん細胞に対する増殖抑制効果
- ・グラム陽性菌と酵母に対する抗菌活性
- ・トポイソメラーゼの阻害
- ・抗酸化性 (DPPH ラジカル捕捉能)
- ・殺蚊活性
- ・抗炎症活性

下線の項目は、本研究により明らかとなったもの。

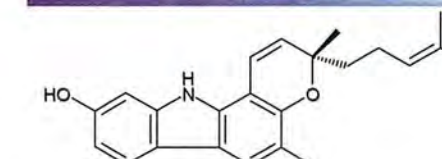


図 2 ミクロメラム・ミヌタムの新葉と単離された抗変異原物質マハニン

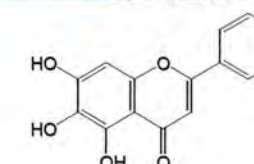


図 3 モクコチョウ (果実が実っている) と単離された抗変異原物質バイカレイン

〔その他〕

研究課題名：食用植物生理機能性評価及び成分解明

予算区分：基盤

研究期間：2002 年度 (2001 ~ 2005 年度)

研究担当者：中原和彦、亀山真由美、小野裕嗣、吉田充 (食総研)、Molay Kumar Roy (筑波フェロー、バングラデシュ)、Najeeb S. Alzoreky (サナア大学、イエメン)、Vipaporn Na Thaleng、Gassinee Trakoontivakorn (カセサート大学、タイ)

発表論文等：Nakahara K., Trakoontivakorn, G., Alzoreky, N., Ono, H., Onishi- Kameyama, M. and Yoshida, M. (2002): Antimutagenicity of some edible Thai plants, and a bioactive carbazole alkaloid, mahanine isolated from *Micromelum minutum*. J. Agric. Food Chem., 50(17), 4796- 4802.

18. 中国における発酵大豆食品腐乳中のペプチドの機能性

〔要約〕中国における発酵大豆食品である腐乳の抽出物には、高い抗酸化活性とアンジオテンシンⅠ変換酵素阻害活性が認められる。これらは、主に分子量 1 万以下のペプチドによるもので、腐乳は機能性食品としての利用が有望な食材である。

所属	国際農林水産業研究センター・食料利用部 中国農業大学・中日食品研究中心			連絡先	029(838) 6358		
推進会議名	国際農林水産業	専門	加工利用	対象	だいず	分類	研究

〔背景・ねらい〕

近年、中国国内において、食品の機能性に関する関心が高まっており、加工による機能性の変化の解明、機能性の利用による食品の高付加価値化に関する研究が重要となっている。中国国内には数多くの伝統食品が存在するが、その機能性に関しては解明が進んでいない。そこで、大豆等の蛋白質資源の高度利用技術の開発と伝統食品の高付加価値化の観点、および高血圧症予防等の機能性食品への利用を図ることを目的として、発酵大豆食品である腐乳からの抽出物の抗酸化活性 (DPPH ラジカル消去能)、アンジオテンシンⅠ変換酵素 (ACE) 阻害活性を評価する。

〔成果の内容・特徴〕

- 腐乳と沖縄で生産された“豆腐よう”からの水溶性抽出物の抗酸化活性 (図 1)、ACE 阻害活性 (図 2) を比較すると、活性は製品によって値に差があるものの、腐乳の活性は豆腐ようと同等またはそれ以上の高い活性を示す。
- 異なる試料の抗酸化活性と ACE 阻害活性を比較すると、高い抗酸化活性を示す試料ほど高い ACE 阻害活性を示す傾向が認められる。
- SDS-電気泳動の結果から、抽出物は主に分子量 1 万以下のペプチドからなることが示され (図 3)、発酵による低分子のペプチドの生成が多い試料ほど抗酸化活性と ACE 阻害活性が高い傾向が認められる。

〔成果の活用面・留意点〕

腐乳の ACE 阻害活性は豆腐ようと同等以上であることが明らかとなり、腐乳のペプチドも精製によって高活性の製品にすることができる。ACE 阻害活性の高い腐乳は高血圧症予防効果が期待でき、これを活用した食品や飲料の開発が可能である。

〔具体的データ〕

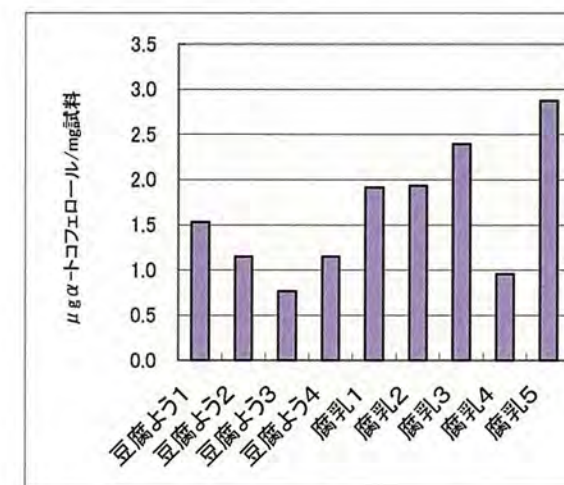


図 1 豆腐よう及び腐乳抽出物の抗酸化活性

豆腐ようは沖縄で製造されたもの。腐乳は中国北京市付近で製造されたもの。
抗酸化活性は同じ強さの活性を発現するのに必要な α-トコフェロールの量に換算して表示した。

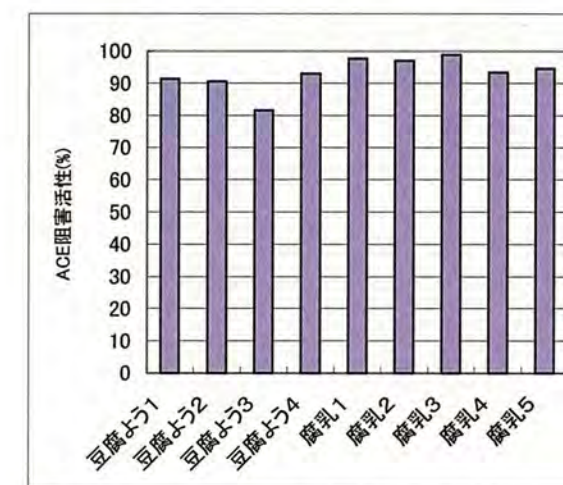


図 2 豆腐よう及び腐乳抽出物のアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性

豆腐ようと腐乳は図 1 と同じ。
ACE 阻害活性は 1.25%(w/v) 抽出物水溶液を用いて測定した。

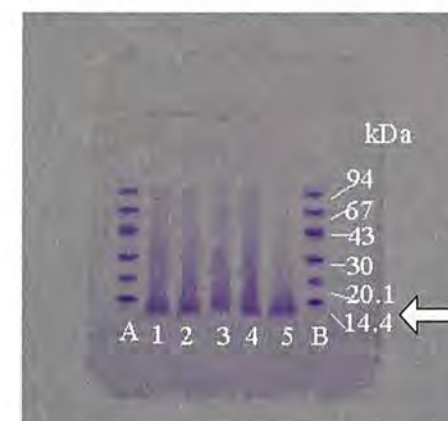


図 3 豆腐よう及び腐乳抽出物の SDS-電気泳動パターン

A、B：分子量マーカー
1 から 4：豆腐よう 1 から豆腐よう 4
5：腐乳 1 (それぞれ図 1、図 2 と同じ)

〔その他〕

研究課題名：澱粉・動植物蛋白質を主成分とする食品素材化技術の開発：動植物蛋白質の加工条件と加工特性

予算区分：国際プロ〔中国食料資源〕

研究期間：2002 年度 (2001 ~ 2003 年度)

研究担当者：斎藤昌義、辰巳英三、汪立君、李再貴、李里特 (中国農業大学)

発表論文等：

- 1) 斎藤昌義 (2002)：大豆の機能性。中国食物と栄養、37 号、30-31。
- 2) 李再貴、斎藤昌義、辰巳英三、汪立君、林微 (2003)：中国における伝統食品産業の現状と問題点。ニューフードインダストリー、45 (1)、65-69。
- 3) Wang, L., Saito, M., Tatsumi, E. and Li, L. (2003): Antioxidative and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of sufu (fermented tofu) extracts. JARQ, 37(2), 129-132

19. 熱帯降雨林はゴムプランテーションに比べて優れた水保全機能を持つ

〔要約〕半島マレーシア・ブキタレ水文試験地内の熱帯降雨林は隣接するゴムプランテーションより土層が厚く、土壌の孔隙率及び透水性が高いため、雨水を一時的に地中に貯留し、洪水流を軽減する機能(水保全機能)に優れている。

所属	国際農林水産業研究センター・林業部			連絡先	029(838)6309		
推進会議名	国際農林水産業	専門	森林環境保全	対象	その他広葉樹	分類	研究

〔背景・ねらい〕

1980 年代以降、半島マレーシアでは森林から主要農作物への土地利用転換が進み、主要農作物であるゴムやオイルパームプランテーションが広がった。現在、プランテーション開発は小康状態にあるものの、1996 年におけるオイルパーム及びゴムは主要農作物の 46% 及び 32% (面積) を占めている。半島マレーシアではプランテーション開発により、その周辺地域で洪水流が増加し、開発による森林攪乱が主要因であると指摘されているが、熱帯降雨林がもつ水保全機能さえ、まだ十分に明らかにされていない。

半島マレーシアに位置するブキタレ水文試験地内の天然二次林(図 1)とそこに隣接するゴムプランテーション(図 2)において、土層深度及び孔隙率、土壌の飽和透水係数を測定し、熱帯降雨林とゴムプランテーションが有する水保全機能について比較検討する。

〔成果の内容・特徴〕

1. 斜面調査用貫入試験機で測定した結果、ゴムプランテーションにおける土層深度(平均値:130cm)は、熱帯降雨林における土層(平均値:277cm)より浅く、ゴムプランテーションの中では特にテラス平坦部の土層深度(平均値:119cm)が傾斜部の土層深度(平均値:141cm)より浅い。
2. 土層深度調査の結果をもとに代表的土層を選定し、不攪乱土壌サンプル(63 点)を採取して雨水の浸透しやすさ(飽和透水係数:Ks)の値を求めたところ、土層深度が増加するにつれて Ks 値は減少する(表 1)。熱帯降雨林での Ks 値は、この地域の時間当たりの降水量より大きい値を示すことから、地表に到達した雨水の多くは地中に浸透することができる。一方、ゴムプランテーションでは、テラス傾斜部の Ks 値が熱帯降雨林と同様な値を示すものの、テラス平坦部の Ks 値は熱帯降雨林の Ks 値と比較して 2 オーダー小さく、雨水が浸透しきれない値を示す。
3. 土壌の飽和体積含水率も Ks 値と同様に土層深度が増すと減少する傾向を示し、それらの大きさは、熱帯降雨林 > テラス傾斜部 > テラス平坦部、という順である(表 1)。
4. テラス平坦部は、プランテーション造成時に表土が剥ぎ取られ、重機によって締め固められるため土壌は孔隙量が少なく、土層深が浅く、透水性が低い。その結果、降水量が頻繁に 50 mm h^{-1} を超えるこの地域では、しばしば洪水流や地表流が容易に発生する(図 3)。これらの結果は雨水を地中に貯留する機能がゴムプランテーションでは低いことを示している。一方、熱帯降雨林の多量な孔隙量と厚い土層、高い透水性は雨水を一時的に地中に貯留し、洪水発生を軽減する機能に優れている。

〔成果の活用面・留意点〕

熱帯降雨林とゴムプランテーションにおける水保全機能の違いは、この地域における水保全機能や洪水防止機能等を知る基礎資料となり、土地利用計画等の施策に反映させることができる。水保全機能を高めるためには、プランテーションから森林への再転換等、一度失われた水保全機能を改善するための森林再生技術の確立が必要である。



図 1 熱帯降雨林内の様子

図 2 ゴムプランテーション内の様子

図 3 ゴムプランテーションに発生した表面流

表 1 熱帯降雨林とゴムプランテーションの土壌物理性

場 所	深度 (cm)	大孔隙 (%)	中孔隙 (%)	飽和体積含水率 (%)	飽和透水係数(Ks) (mm h^{-1})
熱帯降雨林	10	8.5	35.2	72.1	1573
	20	9.7	30.2	69.5	1498
	40	8.6	16.7	61.9	706
	80	8.6	15.9	55.5	378
ゴムプランテーション テラス平坦部	10	5.7	8.4	45.4	29.9
	20	4.0	11.1	39.9	19.8
	40	5.2	5.9	29.2	18.4
ゴムプランテーション テラス傾斜部	10	5.0	21.1	60.4	921
	20	5.4	20.5	65.2	838
	40	2.7	9.7	51.1	1062
	80	3.8	6.7	51.7	260

〔その他〕

研究課題名: 択伐跡地の森林水利機能の評価

予 算 区 分: 環境省地球環境研究総合推進費

研 究 期 間: 2002 年度 (2002 ~ 2004 年度)

研究担当者: 野口正二、Baharuddin Kasran (マレーシア森林研究所)、Zulkifli Yusop (マレーシア工科大学)、坪山良夫 (森林総合研究所)、谷誠 (京都大学)

発表論文等: Noguchi, S., Baharuddin, K., Zulkifli, Y., Tsuboyama, Y. and Tani, M. (2003): Depth and physical properties of soil in forest and rubber plantation, Peninsular Malaysia. J. Trop. For. Sci., 15, (in press)

20. ベトナム・メコンデルタにおけるオニテナガエビの稚エビ培養技術の確立と技術移転

〔要約〕グリーンウォーターシステム（植物プランクトン餌料）はオニテナガエビの安定種苗生産技術を可能にする効率的な稚エビ培養技術であり、飼育水を交換する必要がないので、従来システムより生産コストを低く抑えることができる。このシステムの技術移転により、2002 年のベトナムの稚エビ生産量は 1990 年の 50 倍の 5,000 万尾に拡大した。

所属	国際農林水産業研究センター・水産部			連絡先	029(838)6370		
推進会議名	国際農林水産業	専門	増養殖技術	対象	甲殻類、他のえび類	分類	国際

〔背景・ねらい〕

ベトナム・メコンデルタ地域では、オニテナガエビは重要な養殖対象種として期待されている。しかし、ふ化の幼生から稚エビに変態するまでの期間の生残率が低いため、安定した種苗生産技術の開発が必要とされている。

〔成果の内容・特徴〕

1. ふ化後の幼生から稚エビに変態するまでを、グリーンウォーターシステム（植物プランクトンを培養するため、飼育水が緑色となる）で培養することにより、従来システム（清水交換式、餌料はアルテミアのみ）より、高い生存率が得られる（表 1）。稚エビの最終密度及び生存率から、実用的収容密度 90 尾/リットルが最も経済効率が高いと推定される。
2. カントー大学と国際農林水産業研究センターは稚エビ培養技術を移転するため、ベトナムの省立及び民間のふ化場関係者を対象に実践技術と運営方法について研修を行った。その結果、11 の省立ふ化場と 72 の民間ふ化場が新たに設立され、ベトナムにおける 2002 年の稚エビの年間生産量が 1990 年に比べ 50 倍に増加し、5,000 万尾となった（写真 1 は設立された省立ふ化場の一つ）。
3. 稚エビに変態するまでの幼生期は汽水で飼育する必要があるが、従来は塩分濃度 12 ppt（千分の 1）の汽水を用いていたが、幼生の浸透圧調節機能により、ふ化 15 日目からは 6 ppt でも生存が可能である（図 1）。
4. ベトナム・カントー大学のミニふ化場で生産された人工種苗を、カントー省およびビンロン省の零細農家に提供し、エビ・稲ファーミングシステムの実証試験を実施して、人工種苗を用いた水田でのオニテナガエビ養殖が十分可能であることおよび稲作のみに比べて収入を 2 ～ 3 倍向上させることができることを示した。

〔成果の活用面・留意点〕

1. この技術では、食塩使用量が削減されるので、低コスト化を図ることができる。
2. 開発された稚エビ培養技術は、正確な知識と適切な管理のもとで実施する必要がある。今後、稚エビの餌料となる植物プランクトンの種類とその維持機構について、またファーミングシステムに適用する場合、オニテナガエビが稲の生育等に及ぼす影響と農家家計に及ぼす効果について検討する必要がある。

〔具体的データ〕

表 1 「従来システム」および「グリーンウォーターシステム」における幼生の生存率と稚エビの最終密度。

従来システム		
収容密度	稚エビの最終密度	生存率 (%)
30 尾/L	19.5	52.5
60 尾/L	18.6	28.8
90 尾/L	28.4	31.7
120 尾/L	32.9	27.4
グリーンウォーターシステム		
収容密度	稚エビの最終密度	生存率 (%)
30 尾/L	27.7	92.3
60 尾/L	27.8	46.3
90 尾/L	41.7	46.4
120 尾/L	38.8	32.3



写真 1 Tiengiang 省水産養殖普及センターが管理する淡水エビふ化場。「グリーンウォーターシステム」による種苗生産が行われており、総容積 10m³ の稚エビの飼育槽が使用されている。

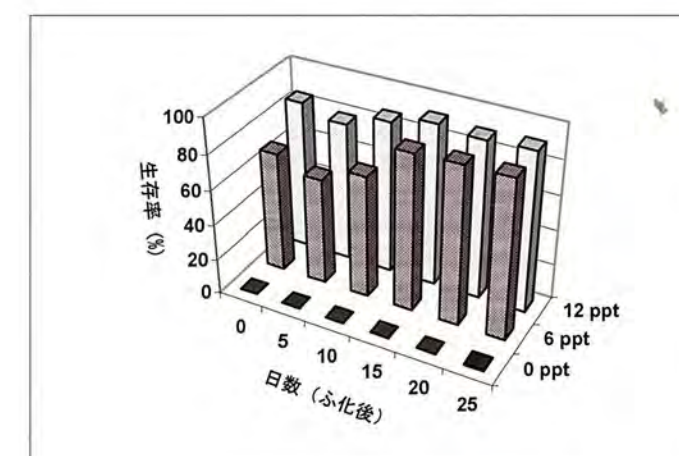


図 1 異なる塩分濃度における幼生の生存率

〔その他〕

研究課題名：ベトナム・メコンデルタにおけるオニテナガエビ種苗生産技術の改善—浸透圧調節及び生殖機構の解明

予算区分：国際プロ〔メコンデルタⅡ〕

研究期間：2002 年度（1999 ～ 2003 年度）

研究担当者：マーシー ワイルダー、Nguyen Thanh Phuong、Tra Thi Thanh Hien、Ngoc Tran Hai、Do Thi Thanh Huong（カントー大学水産養殖カレッジ、ベトナム）

発表論文等：

- 1) マーシー ワイルダー、福田裕（2002）：メコンデルタにおけるオニテナガエビの種苗生産と養殖技術開発。作る漁業の総合情報誌「養殖」、12 月号、98-101。
- 2) Huong, D.T.T., Jayasankar, V., Jasmani, S., Saido-Sakanaka, H., Wigginton, A. and Wilder, M.N. (2002): Na/K-ATPase activity during larval development in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* and the effects of salinity on survival rates. Fisheries Science (in press).

21. エビ類の成熟度判定技術の開発

[要約] エビ類を用い、卵黄タンパク質の全アミノ酸配列、プロセッシング経路および成熟過程に伴う遺伝子発現変化にもとづいて開発したエビ類の成熟度判定法により、親エビを選定できる。

所属	国際農林水産業研究センター・水産部			連絡先	029(838)6370		
推進会議名	国際農林水産業	専門	増養殖技術	対象	甲殻類、他のえび類	分類	研究

[背景・ねらい]

エビ養殖は、東南アジア地域の最大の水産業であり、市場は世界的に拡大傾向にある。しかし、エビ類養殖生産の現状は、成熟した親エビを天然にたより、しかも成熟エビの判定が難しいため、産卵後の生残率が不安定である。安定な養殖技術の確立のため、正確な成熟度判定技術の開発が必要とされている。そこで、エビ類の成熟に重要な役割を担う卵黄タンパク質の構造およびプロセッシング経路を解明し、成熟度判定のための実用的技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

- オニテナガエビの成熟卵巣から、高速液体クロマトグラフィーにより卵黄タンパク質ビテリン (Vn) を精製し、cDNA クローニングにより卵黄タンパク質前駆体ビテロジェニン (Vg) 全体をコードする cDNA が得られ、それを用いて全アミノ酸配列を解明できる (図 1)。
- 同じ方法で決定したクルマエビ、トヤマエビの卵黄タンパク質の全アミノ酸配列も含めると、エビ類におけるアミノ酸配列の同一率は高い。
- オニテナガエビのビテロジェニンは肝臓で合成され、血リンパ中に分泌された後、最終的に 3 つの卵黄タンパク質ビテリン (VnA、B、C) に切断され、卵巣に取り込まれることが判明し、成熟過程に伴う一連の卵黄タンパク質のプロセッシング経路が解明された (図 2)。
- エビ類の卵黄タンパク質の共通部位に対して作成した抗体を用いた抗原抗体反応により、成熟度の指標であるビテロジェニンの血液濃度を定量することができるので、成熟度を判定できる。
- 卵黄タンパク質の mRNA レベルが高まると、ビテロジェニンの血中濃度、生殖腺体重比 (GSI) が共に上昇し、数日以内に脱皮および産卵に至る (図 3)。血液中の卵黄タンパク質濃度を測定する「エビ類成熟度判定技術」は遺伝子レベルと実際の面からも有効である。

[成果の活用面・留意点]

開発された「エビ類成熟度判定技術」は卵黄タンパク質濃度を測定する Enzyme immunoassay、定性的な免疫学的手法、Dot blotting の 3 種類があり、用途に応じて選択が可能であり、現場では Dot blotting が有効である。いずれの方法もキット化が可能である。本技術を形態的観察と組み合わせるとさらに有効である。

エビ類共通の切断部			
<i>Pandalus hypsinotus</i> (トヤマエビ)	APWPSNL・RQKR	SIDFSS	PLGC
<i>Macrobrachium rosenbergii</i> (オニテナガエビ)	APWPSGT・RQRR	SIDLSSQ	PLGC
	72%	55%	
<i>Cherax quadricarinatus</i> (ザリガニ)	APPFGGN・KHKR	SIDMST	PIPC
	53%	37%	
<i>Penaeus japonicus</i> (クルマエビ)	APWGADL・RTKR	SIDSSV	PWAC
	56%	36%	
<i>Penaeus semisulcatus</i> (クマエビ)	APWGADL・RTRR	SIDSSV	LDML
	54%	34%	

図 1 エビ類の卵黄タンパク質の全アミノ酸配列 (数字: トヤマエビと比較した各種卵黄タンパク質との同一率)。トヤマエビ、オニテナガエビおよびクルマエビの全アミノ酸配列は本研究のより解明されたものである。

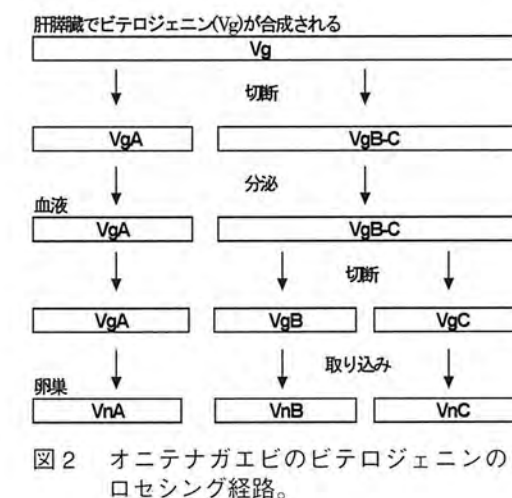


図 2 オニテナガエビのビテロジェニンのプロセッシング経路。

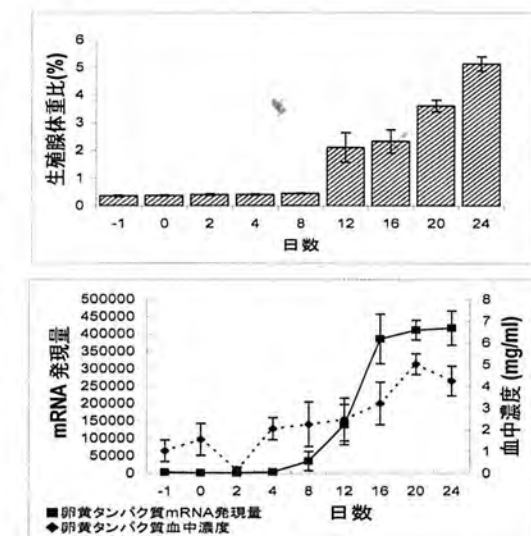


図 3 オニテナガエビの成熟過程に伴う卵黄タンパク質の遺伝子発現の動態。

[その他]

研究課題名: ベトナム等におけるオニテナガエビ成熟過程で産生される卵黄タンパク質の動態解明

予算区分: 基盤研究、重点研究支援、招へい

研究期間: 2002 年度 (2001 ~ 2003 年度)

研究担当者: マーシー ワイルダー、ビデヤ ジャヤサンカー、サフィア ジャスマニ、筒井直昭、
Nguyen Thanh Phuong (カントー大学水産養殖カレッジ)

発表論文等:

- Wilder, M.N., Subramoniam, T. and Aida, K. (2002). Yolk proteins of Crustacea. In: Reproductive Biology of Invertebrates. Adiyodi, K.G. and Adiyodi, R.G. (series eds), Volume XII - Recent Progress in Vitellogenesis. Raikhel, A.S. and Sappington, T.W. (eds). Science Publishers Inc., Enfield, NH, USA. pp.131- 174.
- Jayasankar, V., Tsutsui, N., Jasmani, S., Saido- Sakanaka, H., Yang, W- J., Okuno, A., Hien, T.T.T., Aida, K., and Wilder, M.N. (2002). Dynamics of vitellogenin mRNA expression and changes in hemolymph vitellogenin levels during ovarian maturation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Experimental Zoology, 293, 675- 682.

22. フィリピンにおける養殖ハタ大量死はウイルス性神経壊死症に因る

〔要約〕原因不明であった養殖ハタの大量死は、フィリピンで初めてのウイルス性神経壊死症 (VNN) の感染発病に因るものであり、本症の確定診断は病原病理学的に可能である。

所属	国際農林水産業研究センター・水産部			連絡先	029(838)6609		
推進会議名	国際農林水産業	専門	病理	対象	ウイルス	分類	研究

〔背景・ねらい〕

近年アジアにおいて魚介類の養殖生産量は飛躍的に増大し、総水産物生産のなかで大きな割合を占めている。しかしながら集約的養殖方法により疾病が急増し、親魚育成期および種苗生産期における重大な生産阻害要因となっている。フィリピンの種苗生産場で飼育されていたチャイロマルハタ仔魚に原因不明の大量死がみられたため、チャイロマルハタ仔魚を病原病理学的に調査してその病因を明らかにし、診断技術確立する。

〔成果の概要・特徴〕

1. チャイロマルハタ (図 1) の瀕死魚は摂餌不良および異常遊泳を特徴とする外観症状を呈し、瀕死魚の脳および網膜組織の神経細胞に細胞壊死を伴う明瞭な空胞変性が認められる (図 2)。
2. 電子顕微鏡観察により、病理変化の観察された脳および網膜組織の神経細胞について、その細胞質に直径 20- 25nm の多数のウイルス粒子が検出される (図 3)。
3. 病魚頭部の磨砕濾液を接種した魚類由来株化細胞である SSN- 1 細胞に、顆粒様の物質を含む球形細胞および細胞の膨化を特徴とする細胞変性効果が発現した。その細胞の細胞質に小型 (直径 20- 25nm) 球形のエンベロープを有さない多数のウイルス粒子が電顕観察により確認される。
4. RT- RCR 法より病魚および感染培養細胞から魚類ノダウイルスの外被タンパク質遺伝子が検出される。
5. 大量死したチャイロマルハタ病魚を病原病理学的に調査したところ、その原因はウイルス性神経壊死症 (VNN) である。本症例はフィリピンにおける VNN の初記載である。
6. 健康なチャイロマルハタを用いて感染実験を行った結果、VNN 自然発病魚と同様の症状が再現された (図 4) ことから大量死したチャイロマルハタの死因は VNN の原因ウイルスの感染発病によるものである。

〔成果の活用面・留意点〕

1. 原因不明であったチャイロマルハタの大量死がウイルス性神経壊死症に因るものであることが明らかになったことから、本症の確定診断が可能となる。
2. 本診断法を用いて同地域の高価値養殖魚種の稚仔魚期に深刻な被害を及ぼす本症の発生実態を明らかにすることが重要である。

〔具体的データ〕



図 1 大量死したチャイロマルハタ仔魚 (孵化後 3 4 日)



図 2 大量死したチャイロマルハタの網膜組織の神経細胞にみられた病変 (空胞変性)

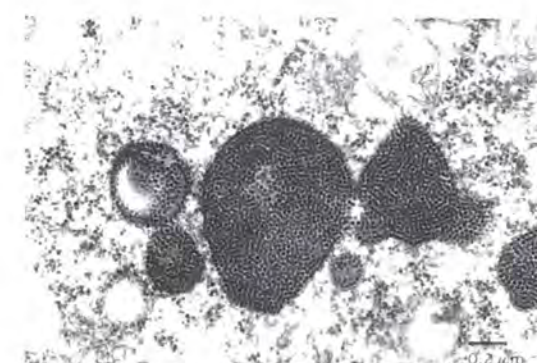


図 3 大量死したチャイロマルハタの脳の神経細胞質内にみられたウイルス粒子



図 4 感染実験 (5 日後) のチャイロマルハタの脳の神経細胞質内にみられたウイルス粒子

〔その他〕

研究課題名：フィリピン等における養殖魚介類の新規疾病診断技術の開発

予算区分：国際プロ [汽水域生産]

研究期間：2002 年度 (2000 ~ 2005 年度)

研究担当者：前野幸男、Leobert de la Pena、Erlinda R. Cruz- Lacierda (東南アジア漁業開発センター、フィリピン)

発表論文等：

- 1) Maeno, Y., de la Pena, L. and Cruz- Lacierda, E.R. (2002): Nodavirus infection in hatchery- reared orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*: First record of viral nervous necrosis in the Philippines. *Fish Pathol.*, 37, 87- 89.
- 2) Maeno, Y., de la Pena, L. and Cruz- Lacierda, E.R. : Mass mortalities associated with viral nervous necrosis in hatchery- reared sea bass, *Lates calcarifer* in the Philippines. (submitted)
- 3) Maeno, Y., de la Pena, L. and Cruz- Lacierda, E.R. (2002): Susceptibility of marine fish species to piscine nodavirus from orange- spotted grouper, *Epinephelus coioides* in the Philippines. Abstract of the 5th Symposium on Diseases in Asian Aquaculture, November 2002, Goldcoast, Australia, 46.
- 4) Lio- Po, G. D., Cruz- Lacierda, E.R., de la Pena, L. D., Maeno, Y. and Inui, Y. (2002): Progress and current status of diagnostic techniques for marine fish viral diseases at the SEAFDEC Aquaculture Department. In "Disease control in Fish and Shrimp Aquaculture in Southeast Asia- Diagnosis and Husbandry Techniques." (ed. by Inui, Y. and Cruz- Lacierda, E.R.), SEAFDEC, Iloilo, Philippines, 97- 106.

23. サヤインゲンの高温による落花と変形莢の発生

〔要約〕 サヤインゲンでは開花前 10 日頃の高温による花粉稔性、あるいは開花当日および前日の高温による花粉管伸長阻害のため不受精となり落花する。開花後の高温は受精した胚珠の発育を阻害し、変形莢を発生させる。

所属	国際農林水産業研究センター・沖縄支所・環境ストレス耐性研究室			連絡先	0980(88)6108		
推進会議名	国際農林水産業	専門	生理	対象	サヤインゲン	分類	研究

〔背景・ねらい〕

熱帯・亜熱帯地域では、高温ストレスのため作物の生産が不安定である。果菜類において生殖生長期に発生する高温障害は収量に大きな影響を及ぼす。しかし、高温により影響を受ける生殖生長期の現象については不明な点が多い。サヤインゲンでは高温になると収量が減少するが、それは落花や変形莢の発生が関与している。そこで落花や変形莢の発生要因を花粉稔性、胚珠発育などの発育生理の視点から検討する。

〔成果の内容・特徴〕

1. サヤインゲンは夏期の高温条件下では、着莢率が低下し、変形莢が出現するため良莢収量が減少する(図 1)。
2. 開花前 10 日頃の高温は花粉稔性を低下させる(平成 11 年度国際農業研究成果情報)。それは花粉 1 核期の葯組織のタペート細胞の小胞体異常を引き起こし、タペート細胞の崩壊時期が早まることに起因する(図 2)。
3. 花粉稔性が低くなると充実花粉が減り、葯が裂開せず、不受精の原因となる。(図 3)。
4. 開花当日および前日の高温は、花粉の成熟に影響を与え、子房内での花粉管伸長を阻害する。(図 4)。
5. 変形莢の発生は、花粉管が花柄側の胚珠まで届かないため胚珠が不受精となること、及び開花後の高温により受精した胚珠が生育不良を起こすことが原因である(図 5)。

〔成果の活用面・留意点〕

本研究で扱う高温とは、ほ場条件下で生殖生長期におけるサヤインゲンの収量が影響を受ける日平均気温が約 28℃以上の温度である。

〔具体的データ〕

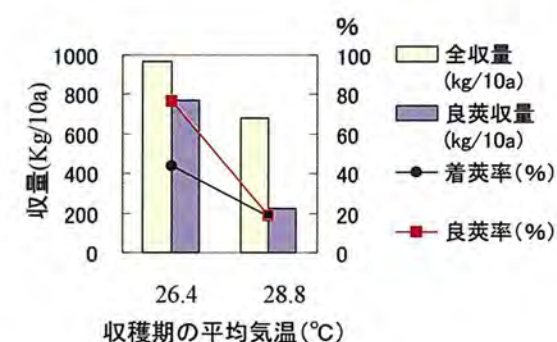


図 1 平均気温と着莢率、収量の関係 (品種 'ケンタッキーワンダー')

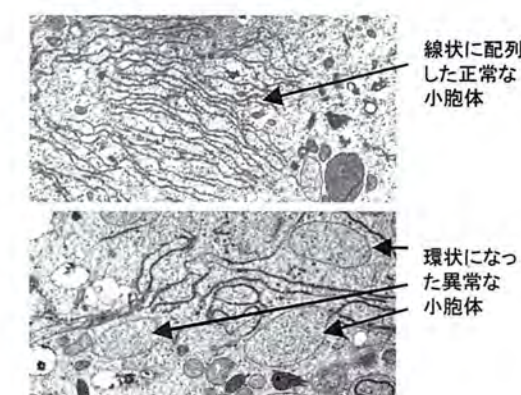


図 2 花粉 1 核期の葯のタペート細胞の小胞体
上: 適温下 (ほ場平均 24℃)、下: 高温下 (ほ場平均 29℃)

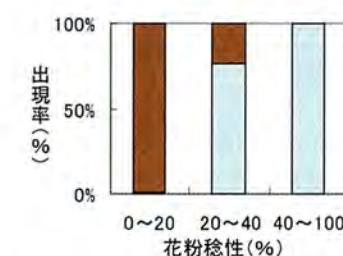


図 3 花粉稔性と葯の裂開の関係

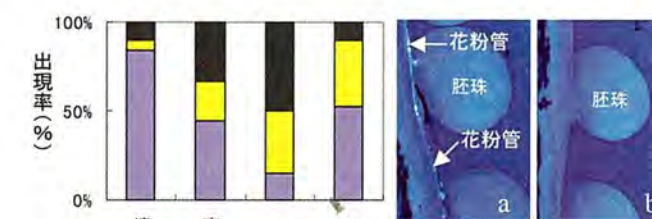


図 4 高温処理後の子房内の花粉管侵入胚珠率の変化

適: 適温 (設定温度 27/23°C) 高: 高温処理日 (設定温度 29~34°C、18 時間、人工照明下) 1: 高温処理 1 日後 (適温下) 2: 高温処理 2 日後 (適温下)

- 花柄側の胚珠まで花粉管が侵入した花 (a)
- 柱頭側の胚珠のみ花粉管が侵入した花
- 花粉管が子房まで届かなかった花 (b)

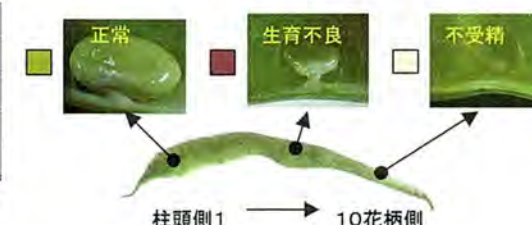
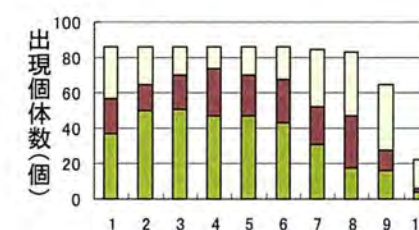


図 5 ほ場で採取した変形莢における子房内の位置別の胚珠の生育

〔その他〕

研究課題名: サヤインゲン等の高温ストレス耐性に関する生理生化学的特性評価

予算区分: 基盤、法人プロ、生研機構 [新技術新分野]

研究期間: 2002 年度 (2001 ~ 2005 年度)

研究担当者: 鈴木克己、庄野真理子、江川宜伸

発表論文等:

- 1) Suzuki, K., Takeda, H., Tsukaguchi, T. and Egawa, Y. (2001): Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress. Sexual Plant Reproduction, 13, 293-299.
- 2) Suzuki, K., Tsukaguchi, T., Takeda, H. and Egawa, Y. (2001): Decrease of pollen stainability of green bean at high temperatures and relationship to heat tolerance. Journal of the American Society for Horticultural Science, 126(5), 571-574.

24. ミトコンドリア型スモールヒートショックプロテイン遺伝子を導入したタバコの耐暑性

〔要約〕 トマトのミトコンドリア型スモールヒートショックプロテイン (MT- sHSP) 遺伝子を、センス向きに導入したタバコは耐暑性を示す。また、アンチセンス向きに導入したタバコは熱感受性を示す。

所属	国際農林水産業研究センター・沖縄支所・環境ストレス耐性研究室			連絡先	0980(88)6202		
推進会議名	国際農林水産業	専門	生理、バイオテック	対象	タバコ、葉菜類、果菜類	分類	研究

〔背景・ねらい〕

いわゆるストレス反応を支える一群のタンパク質として最もよく知られているヒートショックプロテイン (HSP) は、環境変化に反応して抵抗性を誘導し、さらに普段から分子シャペロンとしてタンパク質の介添え役を果たしていることがわかってきている。低分子スモールヒートショックプロテイン (sHSP) も分子シャペロンとしての機能を有することが明らかとなり (平成 13 年度国際農林水産業研究成果情報)、ミトコンドリア型スモールヒートショックプロテイン (MT- sHSP) 遺伝子を導入することによる耐暑性作物の作出を目指す。

〔成果の内容・特徴〕

1. トマト MT- sHSP 遺伝子を導入した T2 世代タバコは、過剰発現させたセンス系統、発現抑制させたアンチセンス系統とも遺伝子の発現量によらず野生型と同等の生長をし、生育異常は見られない (図 1)。
2. センス系統タバコは、常温においても MT- sHSP を顕著に発現する (図 2A)。また、アンチセンス系統は熱ストレス下において MT- sHSP の発現が抑制されている (図 2B)。
3. センス系統タバコは耐暑性を、またアンチセンス系統タバコは熱感受性を示す (図 3)。

〔成果の活用面・留意点〕

耐暑性作物作出のためにトマト MT- sHSP 遺伝子が利用できる。

〔具体的データ〕

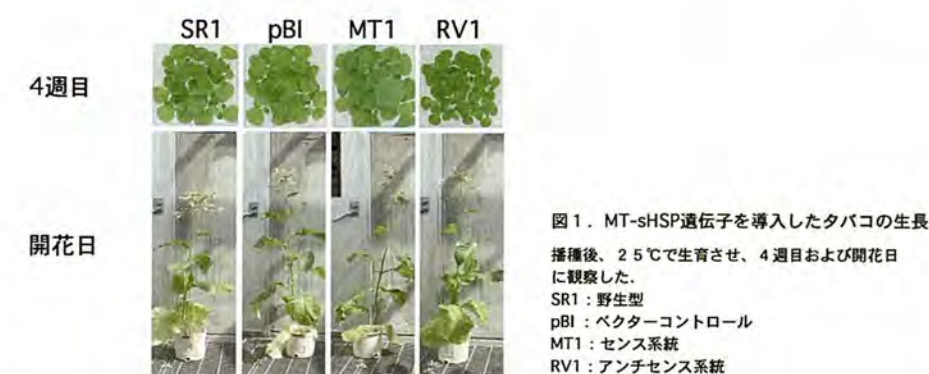


図 1. MT-sHSP遺伝子を導入したタバコの生長
播種後、25℃で生育させ、4週目および開花日に観察した。
SR1: 野生型
pBI: ベクターコントロール
MT1: センス系統
RV1: アンチセンス系統



図 2. MT-sHSP遺伝子導入タバコにおけるMT-sHSP遺伝子の発現
タバコを発芽 4 週目まで 25℃で生育させ(A)、46℃2hr熱処理した(B)。これらを用いてウェスタンブロット解析を行った。



図 3. MT-sHSP遺伝子を導入したタバコの耐暑性
発芽 4 週目の遺伝子導入タバコを 2 時間熱処理し、その後 7 日間、室温で生育させた。

〔その他〕

研究課題名: サヤインゲン等の高温ストレス耐性に関する生理生化学的特性評価

予算区分: 招へい、生研機構〔新技術新分野〕

研究期間: 2002 年度 (1998 ~ 2002 年度)

研究担当者: 庄野真理子、三宮一幸、Jian Liu (Shandong Teacher Univ., China)、Ishwar Singh (Indian Institute of Sugarcane Research, India)、Jalal Ud Din (Land Resources Research Institute, Pakistan)、鈴木克己、塚口直史 (新潟大)、江川宜伸

発表論文等:

- 1) 遺伝子情報データベース DDBJ に登録 (accession number AB026983)
- 2) Liu, J. and Shono, M. (1999): Characterization of mitochondria- located small heat shock protein from tomato (*Lycopersicon esculentum*). Plant and Cell Physiology, 40, 1297- 1304.

25. 超音波処理はアグロバクテリウムの除菌に有効である

〔要約〕サトウキビのアグロバクテリウムを用いた形質転換において、一般の超音波洗浄機による超音波処理でアグロバクテリウムの菌密度を低下させ、除菌・選抜培養中の過剰増殖を抑制することができる。

所属	国際農林水産業研究センター・沖縄支所・育種素材開発研究室				連絡先	0980(88)6301	
推進会議名	国際農林水産業	専門	バイテク	対象	工芸作物	分類	研究

〔背景・ねらい〕

植物のアグロバクテリウムを用いた形質転換では、アグロバクテリウムの接種、菌と対象とする組織・細胞との共存培養後に、アグロバクテリウムを除くための除菌操作が不可欠である。一般には、共存培養後に洗浄することにより組織・細胞に付着するアグロバクテリウムの菌密度を低くし、さらにカルペニシリン等の抗生物質を添加した培地上で培養することによって、除菌を行っている。しかし、除菌培養・選抜培養の過程で、アグロバクテリウムが再び過剰に増殖し、形質転換を行った組織・細胞に大きなダメージを与え、結果的に形質転換効率を低下させることもままあり、簡便で効果の高い除菌方法が求められている。

〔成果の内容・特徴〕

1. アグロバクテリウム（菌株 EHA101）を N6-2 培地（表 1）に懸濁し、超音波処理（5 分間）を行う。この菌液 50 μ l を MS-1 培地に接種し、26 $^{\circ}$ C（暗所）で培養する。4 日後の培地上のコロニー数は超音波処理区で無処理区よりも著しく少なくなり、超音波処理によって生菌数が減少することが分かる（図 1）。菌株 LBA4404 でもこれとほぼ同様の結果が得られる。
2. アグロバクテリウム（菌株 EHA101）を N6-2c 培地に懸濁し、サトウキビ液体振とう培養細胞を加え振とう培養する。24 時間後に培養細胞は滅菌水にて洗浄し、超音波処理を行う。培養細胞は共存培養培地 MS-1c に移植し 3 日間培養した後、除菌培地 MS-1e に移植する。2 週間後に観察すると、超音波処理区では菌の過剰増殖は全く認められないが、無処理区では多数の過剰増殖が認められる（図 2）。
3. サトウキビ液体振とう培養細胞に超音波処理を行った後、MS-1 培地上で培養する。2 週間後のカルス重量では、超音波処理区と無処理区で差は認められない（表 2）。また、このカルスを再分化培地 MS-R9 で培養しても、3 週間後のシュート形成率に差は認められない（表 3）。1～5 分程度の超音波処理は、サトウキビ培養細胞の生育および再分化に対し悪影響を及ぼさない。

〔成果の活用面・留意点〕

1. 超音波処理には市販の超音波洗浄機 Ultrason Velvo Clear VS-150H（44 kHz）を用いた。超音波処理の際、菌および培養細胞は 50ml 容量のプラスチックチューブ（ポリプロピレン製）に入れた。
2. 本手法はサトウキビだけでなく、植物一般のアグロバクテリウムを用いた形質転換に広く利用できる可能性が高い。他の植物種で本手法を用いる場合、あらかじめ超音波処理が対象とする組織・細胞に及ぼす影響を確認しておく必要がある。

表 1 培養に用いた培地

MS-1: MS + 2mg/l 2,4-D + 500mg/l カザミノ酸, 3% ショ糖, 0.9 % Agar, pH 5.8
N6-2: N6 修正 + 2mg/l 2,4-D + 500mg/l カザミノ酸, 3% ショ糖, pH 5.8
N6-2c: N6-2 + 50mg/l アセトシリニン, pH 5.2
MS-1c: MS-1 + 50mg/l アセトシリニン, pH 5.2
MS-1e: MS-1c + 200mg/l カルベニシリン, pH 5.8
MS-R9: MS + 0.5mg/l IAA+1mg/l BA + 1.5% ショ糖 + 1.5% ソルビトール 1.2 % Agar, pH 5.8



図 1 培地上で生育するアグロバクテリウム（EHA101）のコロニー
A; 超音波無処理、B; 超音波処理（5 分）。OD₆₀₀=1 × 10⁶ の菌密度に調整した菌液を接種した。図は接種から 4 日



図 2 除菌培地上で培養中のカルスとアグロバクテリウム（EHA101）の過剰増殖
A; 超音波無処理、B; 超音波処理（5 分）。サトウキビ培養細胞は OD₆₀₀=0.5 の濃度に調整した菌液中で振とう培養した。図は除菌培地に移植して 14 日後の状況。供試品種は Nif 4。

表 2 サトウキビカルスの生育に及ぼす超音波処理の影響

処理	カルス重量 (g) / シャーレ	
	置床時	14 日後
超音波無処理	0.19 ± 0.023	1.52 ± 0.161
超音波処理(1 分)	0.21 ± 0.028	1.82 ± 0.244
超音波処理(5 分)	0.18 ± 0.049	1.61 ± 0.267

1 シャーレあたり 15 個のカルスを置床、値は 5 反復の平均値 ± 標準偏差。供試品種は Nif 4。

表 3 カルスからのシュート再分化に及ぼす超音波処理の影響

処理	シュート形成率 (%)
超音波無処理	63 ± 13.8
超音波処理(1 分)	79 ± 11.0
超音波処理(5 分)	69 ± 23.4

1 シャーレあたり 15 個のカルスを置床、値は 5 反復の平均値 ± 標準偏差。供試品種は Nif 4。

〔その他〕

研究課題名：サトウキビの効率的な形質転換体作出技術の開発

予算区分：基盤

研究期間：2002 年度（2001～2005 年度）

研究担当者：松岡誠、N.S. アリフィン（沖縄招へい、インドネシア）、寺内方克、田村泰章、谷尾昌彦
 発表論文等：松岡誠、N.S. アリフィン、田村泰章、谷尾昌彦、寺内方克（2002）：アグロバクテリウムによるサトウキビ形質転換体の作出—超音波処理はアグロバクテリウムの除菌に有効である—、熱帯農業、46（別 2）、94-95。

参考：ヨーロッパ型とインド型ミトコンドリア DNA を識別する PCR-RFLP 法

[要約] ウシ・ゲノム DNA、制限酵素 *ScaI* および 5% ポリアクリルアミド電気泳動を用いた PCR-RFLP により、ヨーロッパ型とインド型ミトコンドリア DNA を識別できる。

[キーワード] ミトコンドリア DNA、ヨーロッパ型、インド型、PCR-RFLP

[担当] 農研機構・近中四農研・畜産草地部・育種繁殖研究室、島根畜試・繁殖技術科、神戸大学農学部

[連絡先] 電話：0854-82-1285、電子メール：mkomatsu@naro.affrc.go.jp

[区分] 近畿中国四国農業・畜産草地、国際農業 対象 科学・参考

[背景・ねらい]

熱帯地域各国では、インド型 mtDNA をもつ在来牛をヨーロッパ牛品種と交雑し改良を進める場合が多い。しかし、ヨーロッパ系とインド系に大別できる母系ラインの把握はほとんど行われていない。そこで、黒毛和種やフィリピン在来牛等肉用種 8 品種および岡山県ジャージー種等乳用種 3 品種を用いて、D-loop 領域の変異性ならびに mtDNA コーディング領域の RFLP 解析と塩基配列の変異性の検討を行い、ヨーロッパ型とインド型 mtDNA を識別できる簡便な PCR-RFLP 法を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. ゲノム DNA 約 50ng と ND4 の *ScaI* サイトを挟む塩基部分 (343bp) を増幅するプライマーを用いて PCR を行い、その PCR 産物 2 μ l を 5 ユニットの制限酵素 *ScaI* 消化 (1 時間) し、5% ポリアクリルアミド電気泳動を行いエチジウムブロミドで DNA を染色する (図 1)。
2. その DNA 切断パターンからヨーロッパ型の mtDNA (233bp、110bp; 切断型パターン) とインド型 mtDNA (343bp; 非切断型パターン) を区別できる (図 2)。
3. ウシ 66 個体のゲノム DNA を用いて、制限酵素 *ScaI* によるミトコンドリア DNA の LA-PCR-RFLP バンドパターン、D-ループ領域 (436bp) の塩基配列の変異パターンおよび本 PCR-RFLP によるヨーロッパ型 mtDNA とインド型 mtDNA の識別は完全に一致する (表 1)。
4. 本法を用いて、岡山県ジャージー種集団、フィリピン在来牛 3 品種 (バタンガス種、イロコス牛、イロイロ牛)、フィリピン大学けい養アメリカンブラーマン種交雑集団およびホルスタイン種交雑集団には、ヨーロッパ型 mtDNA とインド型 mtDNA をもつ個体が存在する。

[成果の活用面・留意点]

1. 本 PCR の条件は、Ready-To-Go-PCR Beads (Amersham Pharmacia Biotech, Inc.) を用いたものであり、PCR のアニーリング温度条件以外は変更可能である。
2. 岡山県ジャージー種集団や熱帯地域各国において、ヨーロッパ型とインド型 mtDNA をもつ個体が混在している集団で、両 mtDNA 型の識別に有効である。
3. 両 mtDNA 型が混在している集団では、産肉形質や泌乳形質の母系ラインからの育種改良に有効な手法となる可能性がある。

[具体的データ]

- ・ F-プライマー : 5'-cgccgactctatttctattct-3'
- ・ R-プライマー : 5'-tgctataaagtcggtcatagggt-3'
- ・ ゲノム DNA : 約 50 ng、最終容量 25 μ l
- ・ 使用キット : Ready-To-Go™ PCR Beads (0.2ml tubes/plate, Amersham 社)
- ・ PCR :
1 サイクル : 95°C 5 分 ;
35 サイクル : 95°C 1 分
61°C 1 分
72°C 2 分
- ・ 制限酵素 *ScaI* 消化 : 2 μ l の PCR 産物当り
5 ユニットの *ScaI*
37°C 1 時間インキュベート
- ・ 電気泳動 : 5% ポリアクリルアミド電気泳動

図 1 PCR-RFLP 法

表 1 PCR-RFLP 法と他 2 法による結果の比較

品種 (N=頭数)	PCR-RFLP		LA-PCR-RFLP		D-ループ	
	E	I	E	I	E	I
66 個体	42	24	42	24	42	24
ジャージー種	3	2	3	2	3	2
バタンガス牛	0	7	0	7	0	7
イロコス牛	4	4	4	4	4	4
イロイロ牛	1	7	1	7	1	7

E:ヨーロッパ型、I:インド型

[その他]

研究課題：肉用牛において母系側からの育種改良に利用できるミトコンドリア DNA マーカーの検討

課題 ID：06-07-01-01-04-02

予算区分：交付金

研究期間：2002 年度

研究担当者：小松正憲、大島一修、小島孝敏、安田康明 (島根畜試)、安部亜津子 (島根畜試)、長谷川

清寿 (島根畜試)、安部茂樹 (島根畜試)、白石忠昭 (島根畜試)、万年英之 (神戸大学)、

辻壮一 (神戸大学)

発表論文等：

GenBank 登録：

- 1) ウシ 11 品種 66 個体の mtDNA・D-ループ領域の塩基配列 (436bp) を GenBank 登録、アクセシオン番号を取得し、公開した (66 エントリー：AB079300-AB079365; 2002 年 4 月)。
- 2) mtDNA がコードする ND2, ND4, ND5, CytB, 16SrRNA 遺伝子部分の塩基配列を GenBank 登録、アクセシオン番号を取得し、公開した (40 エントリー：AB090957-AB090996; 2002 年 12 月)。

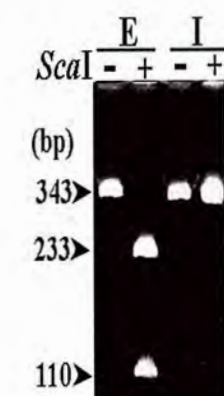


図 2 PCR-RFLP 電気泳動像

(E:ヨーロッパ型mtDNA, I:インド型mtDNA)