

令和元年度
鹿児島大学大学院連合農学研究科
先進の研究推進事業報告書

鹿児島大学大学院連合農学研究科

【事業一覧】

1. 窒素固定増強遺伝子によるマメ科作物の低炭素投入型への転換

代表者：佐賀大学 鈴木 章弘

2. 水平統合型 IoT システムを活用した土砂災害早期検知システムの開発

代表者：佐賀大学 宮本 英揮

3. 島嶼における病原微生物の生態学研究を加速する分子生物学的研究基盤の構築

代表者：琉球大学 関根 健太郎

4. 洪水による作物の水ストレス障害の軽減と抵抗性品種の育成

代表者：鹿児島大学（農） 坂上 潤一

令和元年度連合農学研究科先進的研究推進事業

窒素固定増強遺伝子によるマメ科作物の
低炭素投入型への転換

研究代表者 佐賀大学農学部
生物生産科学専攻
熱帯資源・植物生産科学連合講座
鈴木 章弘

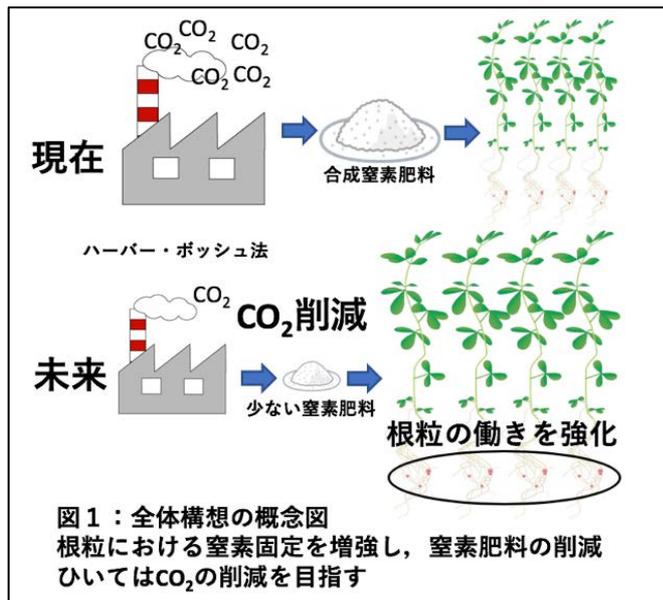
研究の組織と役割分担

	氏名及び職名	所属大学・専攻	研究の役割分担等
代表者	鈴木章弘・教授	佐賀大学・生物生産科学	研究の統括, 小課題 1
分担者	有馬進・教授	佐賀大学・生物生産科学	小課題 1
	遠城道雄・教授	鹿児島大学・生物生産科学	小課題 1
	穴井豊昭・教授	佐賀大学・生物生産科学	小課題 2
	渡邊啓史・講師	佐賀大学・生物生産科学	小課題 2
	川満芳信・教授	佐賀大学・生物生産科学	小課題 3

1 研究の目的と概要

①研究の目的

現在の作物生産では大量の窒素肥料が圃場へ投入され、必要とするアンモニアは天然ガスを材料にハーバー・ボッシュ法によって生産されるため大量のCO₂が排出されている。このような背景のもと代表者らは、根粒菌による生物的窒素固定を飛躍的に増強させ、窒素肥料の使用(製造)を大幅に削減することを目標として研究を推進している(図1)。マメ科植物と根粒菌の共生窒素固定に必須の遺伝子である *SEN1* は、ダイズ品種エンレイとその他の品種(調査済の38品種)間においてアミノ酸配列に多型があり、それが窒素固定活性の強弱を与えている。そこで交雑を6回繰り返すことによって西日本の主力品種であるフクユタカへ、エンレイ型 *SEN1* を導入した準同質遺伝子系統(フクユタカ *SEN1*) を作出し窒素固定活性を測定した。その結果、フクユタカ *SEN1* はオリジナル品種のフクユタカよりも顕著に高い値を示した。調査



した限りエンレイのみが異なるアミノ酸配列を持つという事実を踏まえると、上記の結果は世界中で栽培されているほとんどのダイズ品種へ、同様の方法で高窒素固定能を付与することができる可能性を強く示唆している。そこで本研究では、ダイズ栽培の低炭素投入型への転換を目指して3つの小課題を遂行する。これらによって異なる栽培条件（施肥量や生産地の違い）においてもエンレイ型 *SENI* の有用な農業形質が発現することを確認し（小課題1）、フクユタカ以外の有力なダイズ品種への高窒素固定能の付与を進め（小課題2）、さらに高窒素固定能によって沖縄のような痩せた土壌でも生産可能な「沖縄地ダイズ」開発への道筋をつける（小課題3）ことを目的とする。

②研究の概要

小課題1：ダイズの窒素固定増強遺伝子による窒素肥料削減効果の検証

2019年度は、人工気象器を用いた栽培試験と圃場における栽培試験を行った。人工気象器における栽培期間は根粒菌接種後4週間であり、圃場における栽培試験の結果と単純に比較することは困難であるが、子実生産量に大きく影響すると考えられる地上部の重さ（莖重）が、多くの窒素濃度処理区においてEnrei型で高い値を示していた。これはEnrei型の高い窒素固定活性によって導かれている可能性が高いと考える。また、圃場試験における百粒重においては、窒素量が25%と50%の処理区においてPeking型よりもEnrei型の方が有意に高い値を示しており、Enrei型の優位性を示していると考えられる。さらに窒素量が25%と50%の処理区のEnrei型の百粒重は100%の時のPeking型およびEnrei型とほぼ同じ値を示していることから、Enrei型 *SENI* をもつフクユタカ *SENI* は、従来の栽培方法と比較して窒素の施肥量を75%程度削減しても同程度の種子重のダイズ生産を達成できる可能性が示された。

小課題2：エンレイ型 *SENI* 遺伝子を導入した新規ダイズ品種の創生

この小課題では、高オレイン酸及び黒大豆へEnrei型 *SENI* を導入することを試みた。高オレイン酸ダイズに関しては2019年夏に、フクユタカ *SENI* と佐大H01号を交配してF1世代の種子を得ることに成功した。現在、このF1個体を栽培中でありF2世代の種子を得る段階にある。またフクユタカ *SENI* と佐賀黒7号の交配も2019年夏に行ったが、開花のタイミングが合わずに不調に終わった。これに関しては、交配を行うべく人工気象器を用いてそれぞれの交配親を栽培しているところである。

小課題3：沖縄地ダイズ適正品種の探索とエンレイ型 *SENI* 遺伝子の導入

沖縄地ダイズ生産の復活へ向けた取り組みが求められている現状を受けて、本小課題では、高い窒素固定活性を示すEnrei型 *SENI* を沖縄地ダイズへ導入することを計画した。よく知られているように沖縄の圃場は痩せている場所が多いことから、窒素肥料を

自ら作り出す作用の共生窒素固定が極めて重要な意味を持つとの判断からである。2019年度は青ヒグや高アンダーへ Ennrei 型 *SENI* を導入することを目標にこれらの品種の増殖を行っている（沖縄におけるダイズの収穫期は緯度が大きく異なるため本州や九州とは大きく異なる）。

2 研究の成果

小課題1：ダイズの窒素固定増強遺伝子による窒素肥料削減効果の検証

（担当：鈴木章弘，有馬進，遠城道雄）

佐賀県など九州各県における一般的なダイズ栽培においては、10 α 当たりの施肥量が、窒素：リン酸：カリウム = 6 kg : 6 kg : 6 kg である。そこで本実験では、リン酸とカリウムの施肥量をいずれも 6 kg とし、窒素の施肥量を 10 α あたり 6 kg を 100%とした場合に、100, 80, 60, 40, 20, 0%と変化させて栽培試験を行った。まず初めに人工気象器を用いた栽培実験の結果を示す。16 時間明期/8 時間暗期，25 $^{\circ}$ C，上記の窒素施肥条件でダイズ根粒菌を接種後，4 週間ダイズを生育させた。図 2 は人工気象器内で栽培中のダイズを示す。



図 2: 人工気象器で生育中のダイズ植物

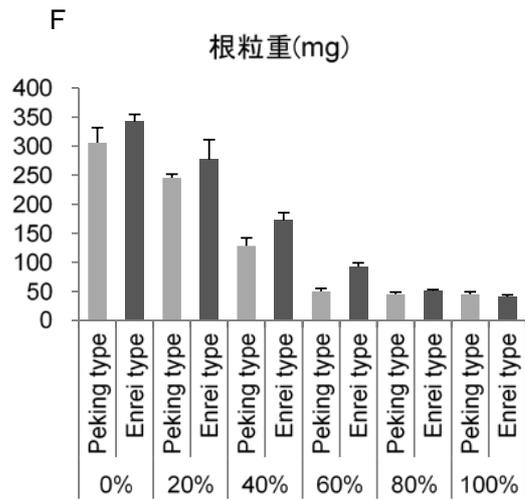
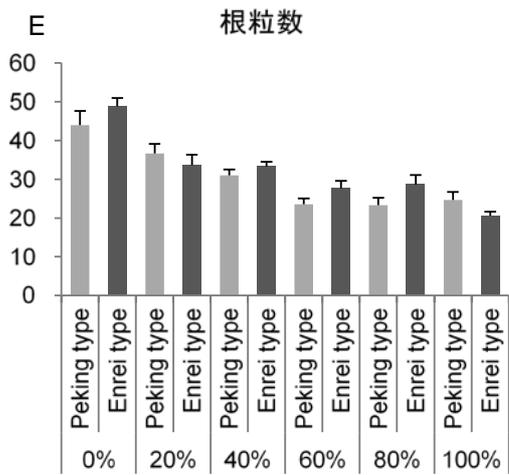
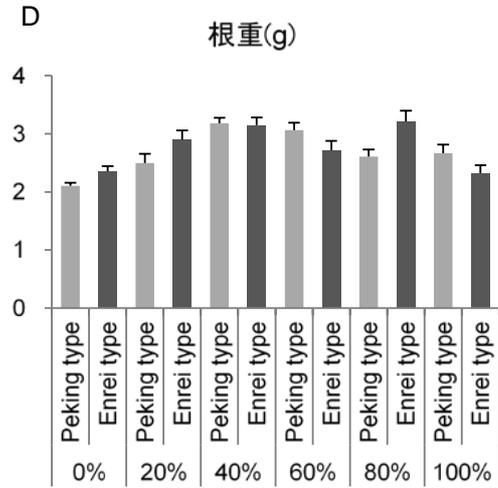
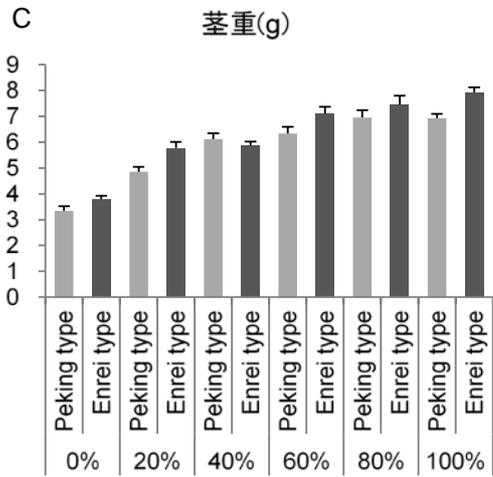
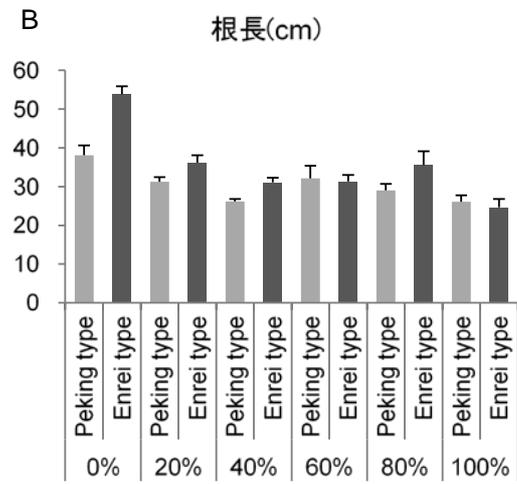
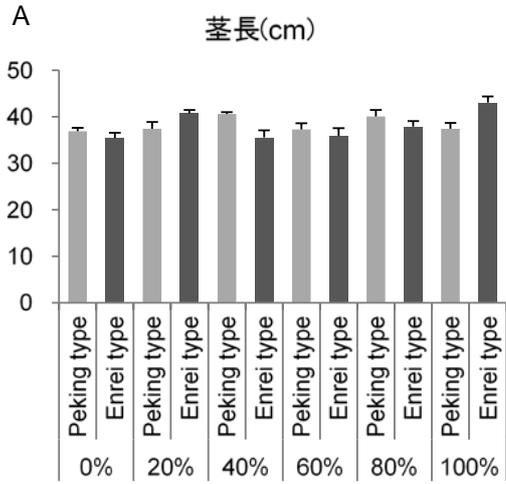


図 3：人工気象器内で異なる窒素濃度条件下で栽培したダイズの成長

(A) 茎長 (B) 根長 (C) 茎重 (D) 根重 (E) 根粒数 (F) 根粒重を示す。図中の Error bar は標準誤差を表す。Peking type は Peking 型, Enrei type は Enrei 型, $n = 6$.

施肥窒素量が増加すると茎重は増加傾向を示し、逆に根粒数、根粒重は減少傾向を示した(図3)。窒素の施肥量と根粒形成は負の相関があることが知られており、本実験でも予想される結果となった。Peking 型と Enrei 型を比較すると、すべての処理区の調査項目で有意な差は見られなかったが、0%、20%、60%、80%、100%の処理区では Enrei 型は Peking 型よりも茎重が重い傾向にあった(図3C)。根重に関しては0%、20%、80%の処理区で Enrei 型が高い傾向を示した(図3D)。これらの結果は、Enrei 型 *SENI* を持つ場合に、植物体の地上部の成長が促進される可能性が高いことを示す。

次に、同様の栽培実験を圃場において行った結果を示す。図4に示すように、圃場内に波板を用いて区画を作り窒素濃度を変化させた実験区を設定した。



図 4: 窒素濃度を変化させてダイズを栽培している様子

コンタミネーションの可能性を排除するため、栽培した個体から DNA を抽出し、dCAPS 法によって遺伝子型の判別を行い、Peking 型と Enrei 型の種子の百粒重を比較した。ここでは、すべての個体の遺伝子型の判別が完了している佐賀における結果を示す(図5)。

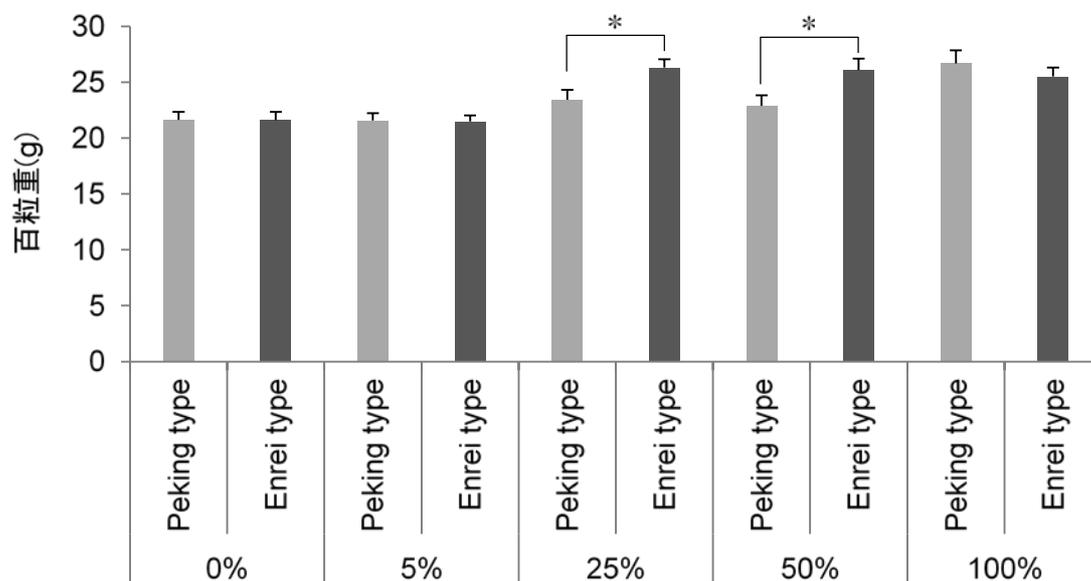


図 5 : 実験 8 : 異なる窒素濃度条件下で栽培したダイズ BC₃F₄ の種子重の比較

図中の Error bar は標準誤差を表し、アスタリスクは有意差 (t-検定 $p < 0.05$) を表す。
 0 % Peking 型 $n = 12$, Enrei 型 $n = 12$. 5 % Peking 型 $n = 14$, Enrei 型 $n = 12$.
 25 % Peking 型 $n = 11$, Enrei 型 $n = 13$. 50 % Peking 型 $n = 7$, Enrei 型 $n = 11$. 100 % Peking 型 $n = 3$, Enrei 型 $n = 12$.

全体の傾向として、窒素濃度の増加に伴って百粒重は増加した(図 5)。Peking 型と Enrei 型の百粒重を比較すると、25 %と 50 %の処理区で Enrei 型の方が有意に高い値を示した。しかし、0 %と 5 %、100 %の処理区では遺伝子型間に差はみられなかった。100%の処理区に関しては、ダイズを播種した時の発芽率が若干低く、Peking 型の個体が少なくなったことが原因として考えられた。また、今年度は夏に大雨が降ったため施肥した窒素成分が雨水のオーバーフローによって流失した可能性も考えられた。

2019 年度は、人工気象器を用いた栽培試験と圃場における栽培試験を行った。人工気象器における栽培期間は根粒菌接種後 4 週間であり、圃場における栽培試験の結果と単純に比較することは困難であるが、子実生産量に大きく影響すると考えられる地上部の重さ(莖重)が、多くの窒素濃度処理区において Enrei 型で高い値を示していた。こ

れは Enrei 型の高い窒素固定活性によって導かれている可能性が高いと考える。また、圃場試験における百粒重においては、窒素量が 25%と 50%の処理区において Peking 型よりも Enrei 型の方が有意に高い値を示しており、Enrei 型の優位性を示していると考えられる。さらに窒素量が 25%と 50%の処理区の Enrei 型の百粒重は 100%の時の Peking 型および Enrei 型とほぼ同じ値を示していることから、Enrei 型 *SENI* をもつフクユタカ *SENI* は、従来の栽培方法と比較して窒素の施肥量を 75%程度削減しても同程度の種子重のダイズ生産を達成できる可能性が示された。

小課題 2：エンレイ型 *SENI* 遺伝子を導入した新規ダイズ品種の創生

(担当：穴井豊昭，渡邊啓史)

通常のダイズ油脂は酸化安定性が低い多価不飽和脂肪酸の含量が高く（70%程度），長期保存や加熱の過程で油脂が劣化しやすいという問題点がある。それに対して研究担当者らは、ダイズへの突然変異の導入によって多価不飽和脂肪酸の含量を 10%以下にまで減少させ、その代わりに通常 20%程度のオレイン酸含量をオリーブオイル並みの 80%以上にまで高めることに成功している（高オレイン酸ダイズ；佐大 H01 号）。また、佐賀県と連携して大粒の黒大豆品種である佐賀黒 7 号も開発してきた。これらの二品種はいずれも Peking 型 *SENI* 遺伝子を保持するため、この小課題ではこれらに Enrei 型 *SENI* を導入することとした。

高オレイン酸ダイズに関しては 2019 年夏に、フクユタカ *SENI* と佐大 H01 号を交配して F1 世代の種子を得ることに成功した。現在、この F1 個体を栽培中であり F2 世代の種子を得る段階にある。

またフクユタカ *SENI* と佐賀黒 7 号の交配も 2019 年夏に行ったが、開花のタイミングが合わずに不調に終わった。これに関しては、交配を行うべく人工気象器を用いてそれぞれの交配親を栽培しているところである。

小課題 3：沖縄地ダイズ適正品種の探索とエンレイ型 *SENI* 遺伝子の導入

(担当：川満芳信)

沖縄におけるダイズの作付面積は、1950 年代は 6,000 ヘクタールに及んだが平成 26 年には 1 ヘクタールにまで減少している。しかしながら食品加工メーカー等からの要望や食育、地域おこしの観点から内閣府は沖縄地ダイズ生産の復活へ向けた取り組みを行っている。また沖縄のように痩せた土壌における作物栽培では窒素肥料を自ら作り出す

作用の、共生窒素固定が極めて重要な意味を持つ。そこで本小課題では、青ヒグや高アンダーへ Enrei 型 *SEN1* を導入することを目標にこれらの品種の増殖を行った。この小課題に関しては、現在も研究を継続中である。

3 研究の総括と今後の課題・展望

・研究の総括

小課題 1 において、図 5 で示されたように種子の百粒重に限っては、Enrei 型 *SEN1* を持つことによって窒素の施肥量を現状から 75%削減できる可能性を示すことができた。今年度の研究では、大雨等の影響によって単位面積当たりの生産量を正確に把握することができなかった。しかし仮に同等であったと考えた場合、次の試算が可能となる。すなわち世界中のダイズ栽培を考えた時、その生産にはハーバー・ボッシュ法によって作られた窒素を利用しており、その過程で年間約 1,000 万トンの二酸化炭素が排出されている。もし世界中のダイズ品種に Enrei 型 *SEN1* を導入することができれば計算上 750 万トンの二酸化炭素排出を抑制できることになり画期的なこととなる。

小課題 2 及び 3 においては、優位性を示す Enrei 型 *SEN1* を既存のダイズ品種に導入することを推進した。予定通り進まなかった部分もあるが、研究期間が終了した現在も研究は継続して行われており、近い将来達成できると考えている。

・次年度に向けての課題・計画・展望

小課題 1 では、栽培試験を繰り返して行なう必要がある。さらに大雨等の予期せぬ条件変化にも対応できるよう栽培方法を見直さなければならない。小課題 2 では、2020 年夏季に F2 集団を圃場にて展開し、Enrei 型 *SEN1* 遺伝子、高オレイン酸遺伝子（2 遺伝子）をすべてホモで持つ、個体を 1/64 の確率で得られるはずである。また分離集団には高オレイン酸遺伝子をホモで持ち、Peking 型 *SEN1* を持つ個体等も含まれるため、これらの系統を比較することで、*SEN1* 遺伝子の農業形質に与える有用性を評価することができる。そして 2021 年以降、Enrei 型 *SEN1* 遺伝子を導入した系統の実用の可否について、一定の目途がつくと期待される。小課題 3 では、2020 年度の前半には種子の増殖の目処がつくと予想されるため、交配によって Enrei 型 *SEN1* 遺伝子を導入していく必要がある。

・科研費等の競争的外部資金への応募計画

本研究は単年度で終了するものではないため、令和 2 年度（2020 年度）の科研費基盤研究 B へ応募済みである。

4 関連する論文発表（投稿中を含む）

- Y. Nishida, R. Hiraoka, S. Kawano, N. Suganuma, S. Sato, S. Watanabe, T. Anai, S. Arima, A. Tominaga and A. Suzuki (2020). Effects of MG20 type *SENI* on the growth of host plant through enhanced nitrogen fixation in *Lotus japonicus*. (submitted)
- M. A. R. Sarkar, S. Watanabe, A. Suzuki, F. Hashimoto and T. Anai (2019) Identification of novel MYB transcription factors involved in the isoflavone biosynthetic pathway by using the combination screening system with agroinfiltration and hairy root transformation. *Plant Biotechnology*, 36, 241-251
- M. A. R. Sarkar, W. Otsu, A. Suzuki, F. Hashimoto, T. Anai and S. Watanabe (2019) Single-base deletion in GmCHR5 increases the genistein-to-daidzein ratio in soybean seed. *Breeding Science*, (in press)

5 支援金額の執行内訳

項目	金額(円)	内訳等
備品	478,500	低圧グラジエントユニット, カラムオープン,
消耗品	2,123,400	分子細胞生物学実験用試薬, ガラス器具, プラスチック器具, 植物栽培用資材等
旅費	309,000	国内学会参加発表, 国際学会参加発表(佐賀-高松2名, 佐賀-武漢1名)
その他	89,100	謝金(作物栽培補助), 学会参加費等
合計	3,000,000	

令和元年度連合農学研究科先進的研究推進事業報告書

水平統合型 IoT システムを活用した土砂災害 早期検知システムの開発

研究代表者 佐賀大学農学部

農水圏資源環境科学専攻

地域資源環境工学連合講座

宮本 英揮

研究の組織と役割分担者

	氏名及び職名	所属大学・専攻	研究の役割分担等
代表者	宮本英揮 准教授	佐賀大学・農水圏資源環境科学	システム開発, データ解析, 研究統括
分担者	中村真也 教授	琉球大学・農水圏資源環境科学	地表流解析, 危険度評価
分担者	伊藤祐二 准教授	鹿児島大学・農水圏資源環境科学	地表流解析, センサ開発
協力者	大山正巳 代表取締役社長	スマートロジック株式会社	クラウドシステム開発
協力者	大北昭二 代表取締役社長	クリマテック株式会社	観測システムの保守管理
協力者	平嶋雄太 技術員	佐賀大学農学部	観測システムの保守管理

1. 研究の背景と目的

数十万箇所を越える土砂災害危険箇所を抱える我が国では、近年の降雨特性の変化に伴って土砂災害が増加・激化し、国民の生命・財産が失われ続けている。避難勧告・指示の指標となる土砂災害警戒情報は、土壌雨量指数に基づき発令される。しかし、土砂災害警戒判定メッシュの空間スケールは、実際の斜面の空間スケールよりはるかに大きいうえに、全国一律でマサ土パラメータを指数計算に与えるため、指数値の取扱いの是非や不確実性について繰り返し議論されてきた。さらに、斜面崩壊という事象のスケールに比して広すぎる地域への避難勧告・指示、避難生活の長期化、的中精度・住民避難率の低さ等が、深刻な社会問題になっている。

一方、激化する自然災害を受けとめる社会の脆弱化を受け、我が国では、自然災害に対する強靱な社会の構築を目指して、「レジリエント(被害を最小限に留め、災害からいち早く立ち直ることが出来る強靱さ)な防災・減災機能の強化」が急がれている。なかでも、先端科学技術を活用した「観測に基づく予測力の向上(早い察知)」は、我が国が推進すべき重点課題に位置づけられており、その実現のための斜面防災・減災技術の創造と早期実用化は、土砂災害大国・日本の悲願である。

斜面崩壊は、土中への雨水の浸透が引き金となって、突発的に土塊が滑落する事象である。GNSS 測量およびワイヤー式伸縮計等の既存の監視技術は、滑動が比較的ゆっくりとした地すべりの検知に有効であるものの、測定原理上、突発的に生じる斜面崩壊を検知することが難しい。斜面崩壊の前兆を効果的に検知するためには、その引き金をひく事象、すなわち土壌中の水分の動態や量的変化に加え、それに伴う土塊の移動をリアルタイムで検知する監視技術へ転換する必要がある。

本研究では、IoT(モノのインターネット)を活用した土砂災害前兆検知技術を確立することを目標として、(1)三軸加速度センサを搭載した土壌水分センサ(以後、土壌水分・加速度センサと称す)の特性の評価、(2)斜面における高精度土壌水分計測のための同センサの校正、(3)同センサを実装した統合型 IoT プラットフォームによる熊本地震・土砂災害現場のモニタリング等について、段階的に実施する。一連の実験を通して本法の有効性を検討し、統合型 IoT プラットフォームによる斜面崩壊前兆検知技術の社会実装のための方途を明らかにした。

2. 研究成果

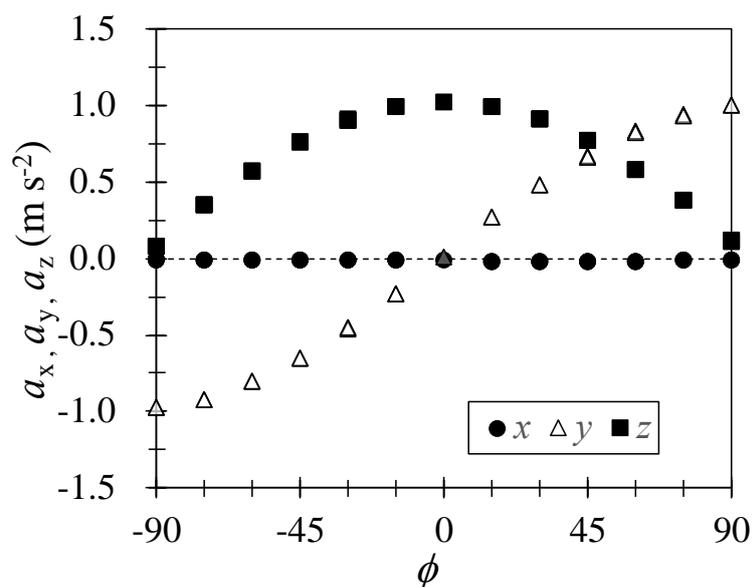
2.1 土砂災害早期検知システムの開発(担当:宮本英揮, 伊藤祐二, 協力:平嶋雄太)

①三軸加速度センサを搭載した新型土壌水分センサ

本研究では, 長さ 11 cm, 幅 2.5 cm の伝送遅延方式の土壌水分センサに, 小型の三軸加速度センサを実装した一体型センサ(Photo1)を用いることとした。SDI-12(Serial-Digital Interface at 1200 Baud)プロトコルに対応したこのセンサを活用すれば,



Photo1 土壌水分・加速度センサ



斜面崩壊の誘因となる土壌の体積含水率(θ)の変化に加え, x 軸, y 軸, z 軸の各軸方向の重力加速度($\alpha_x, \alpha_y, \alpha_z$)に基づき土壌の傾きの変化を検知できると考える。

②角度変化に対する加速度の応答および角測定精度

土壌水分・加速度センサの有効性を検討するために, 各軸を中心として-90 度から 90 度まで, 分度器でセンサの角度を測りながら段階的に回転させ, $\alpha_x, \alpha_y, \alpha_z$ の変化を記録した結果, 三者のうちの二者が位相の異なるカーブを描いて変化した(Fig.1)。三者を次式に代入することにより, x 軸, y 軸, z 軸の各軸回りの角度を求めた。

$$\phi_x = \tan^{-1}\left(\frac{\alpha_x}{\sqrt{\alpha_y^2 + \alpha_z^2}}\right), \quad \phi_y = \tan^{-1}\left(\frac{\alpha_y}{\sqrt{\alpha_x^2 + \alpha_z^2}}\right), \quad \phi_z = \tan^{-1}\left(\frac{\alpha_z}{\sqrt{\alpha_x^2 + \alpha_y^2}}\right) \quad (1)$$

手動で角度設定・測定を行ったため, 設定角度(ϕ_0)に対する三者の RMSE はそれぞれ 4.50° , 4.01° , 2.74° となり比較的大きくなったものの, いずれも概ね 1:1 線上に分布し(Fig.2), ぶれも小さかったため, 斜面の異常検知に通用すると考える。

③センサ特性の評価

土壌水分・加速度センサの特性を評価するために, 計測の再現性が高く, 手軽にセ

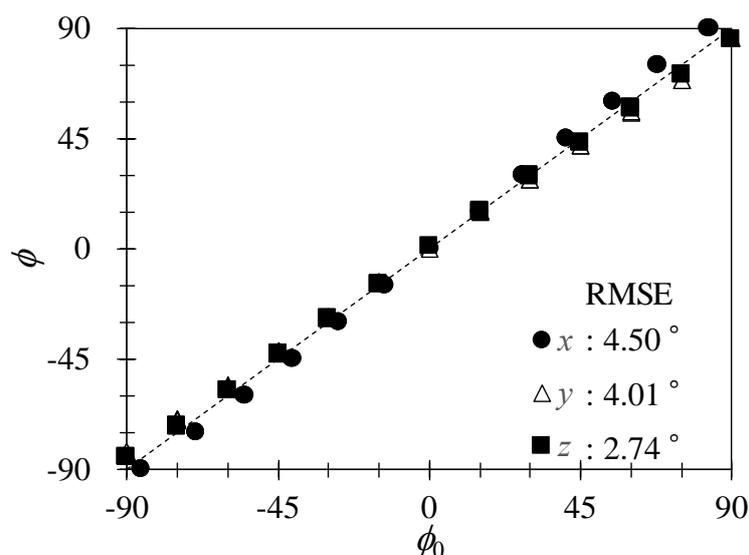


Fig.2 設定した角度(ϕ_0)と軸回り角度(ϕ)との関係

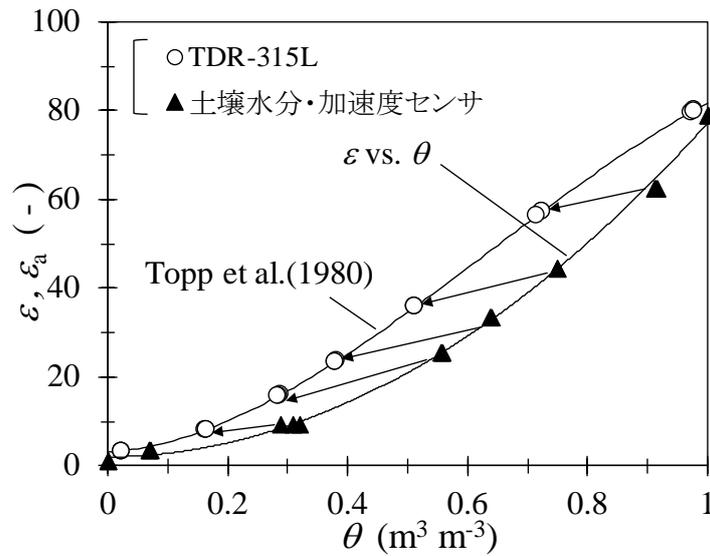


Fig.3 各流体の複素誘電率の実数部(ϵ)または見かけの誘電率(ϵ_a)と土壤水分・加速度センサで測定した θ との関係

ンサ特性を評価できる流体を供試材料とした評価実験を行った。すなわち、蒸留水、油、空気、濃度の異なる4種のエタノール、エタノール-油混合液等の流体中に、先述の土壤水分・加速度センサの感知部を固定し、出力される体積含水率(θ)を3回記録した。粘土コロイドの複素誘電スペクトルを測定した宮本ら(2008)¹⁾に倣って、誘電分光法により、各流体の複素誘電率を測定した後、土壤水分・加速度センサの測定周波数(100 MHz)における各流体の複素誘電率の実数部(ϵ)を抽出した。比較のために、土壤科学分野において多用されるTDR-315Lセンサ(Acclima)でも、同一流体の見かけの誘電率(ϵ_a)を測定した後、多くの土壤に対する高い適合性が知られるTopp式²⁾にそれを代入して θ を求めた。

土壤水分・加速度センサによる ϵ は、再校正を要した。 ϵ が大きいほど、土壤水分・加速度センサによる θ が大きくなったのは、TDR-315Lセンサと同様であったものの、土壤水分・加速度センサが描く ϵ - θ 曲線は、Topp式²⁾と乖離した(Fig.3)。誘電分散を示す媒質の誘電率は測定周波数によって異なるため、同一流体に対する ϵ と ϵ_a は一致しないが、この結果から、Topp式が通用する土壤に土壤水分・加速度センサを適用すると、両曲線のずれに相当する誤差が生じることを示す。つまり、後述する斜面モニタリングに同センサをそのまま適用すると、 θ の大きな誤差が生じ得ることから、斜面崩壊という生命に関わる事象へ適用するなら、別途、再校正しなければならないと判断する。

④ 土壌水分・加速度センサの校正

吸引法を利用して、土壌水分・加速度センサの校正を行った。セラミックフィルターを敷設したアクリル製カラム(内径 15 cm)の高さ 3 cm に、TDR-315L センサと同等の性能を有する TDT センサ(Acclima)を水平に固定した(Fig.4)。後述する実証試験サイトから採取した黒ボク土を、乾燥密度が $0.59 \pm 0.01 \text{ Mg m}^{-3}$ となるようカラムの高さ 6 cm まで充填した後、蒸留水でカラムを毛管飽和させた。そして、カラム下端にサクシオンを与えて排水が停止するまで待った後、積算排水量を測定した。サクシオンを段階的に大きくしながら各段階において同一実験を反復することにより、 ε_a と積算排水量から求めた θ との経験的関係を次式で表した(Fig.5)。

$$\theta = 0.0001\varepsilon_a^3 - 0.0009\varepsilon_a^2 + 0.0342\varepsilon_a + 0.0533 \quad (2)$$

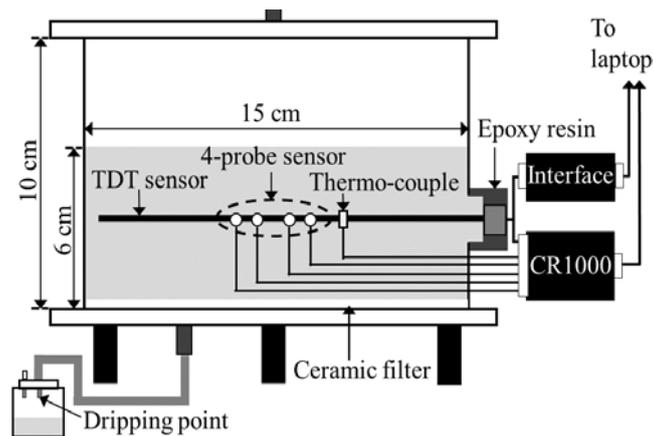


Fig.4 吸引法による校正実験の模式図

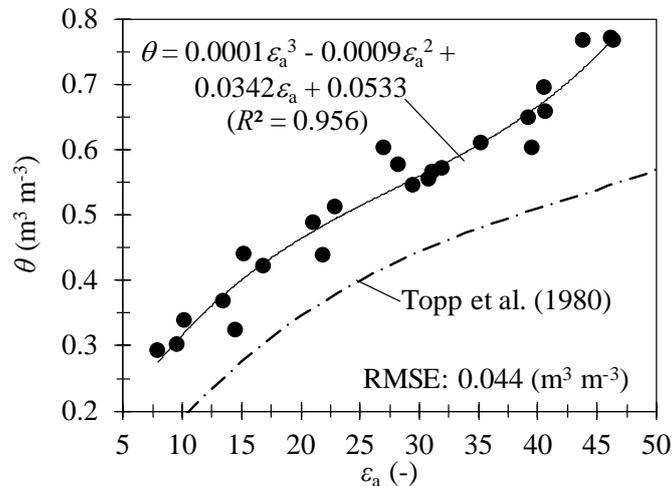


Fig.5 見かけの誘電率(ε_a)と体積含水率(θ)との関係

宮本・筑紫(2006)³⁾の簡易校正法により、土壌水分・加速度センサの ε - θ 曲線(Fig.3)を多項式で近似(式は非公開)したうえで、 $\varepsilon \doteq \varepsilon_a$ が成立する(土壌が誘電分散を示さない)、すなわち、センサの測定周波数(100 MHz)における ε と、TDR-315L センサの実効周波数における ε_a が等しいと考え、 ε - θ 曲線(Fig.3)を(2)式にあてはめることにより、センサによる θ を補正することとした。

⑤統合型 IoT システムの概要

各種センサの相互接続性、多点・多項目のリアルタイム観測、web システムによる遠隔操作およびデータ解析機能等を有する省電力型の IoT システムを構築した(Fig.6)。親機には、GPS モジュール、赤外線カメラ、LTE モデム、非常時のデータバックアップ

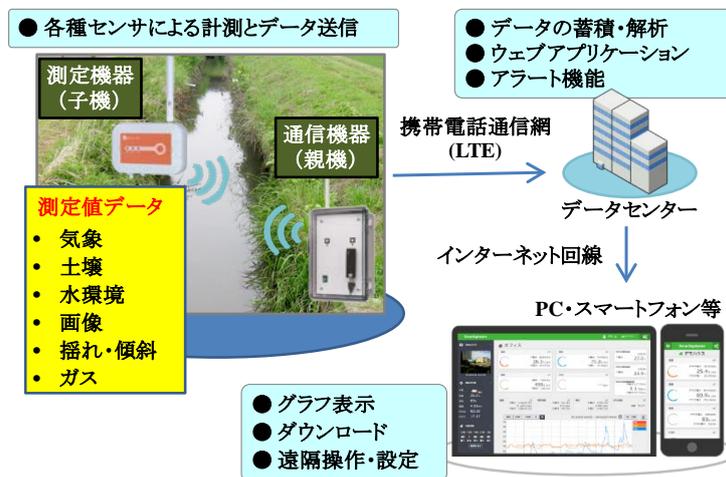


Fig.6 統合型 IoT システムの概要

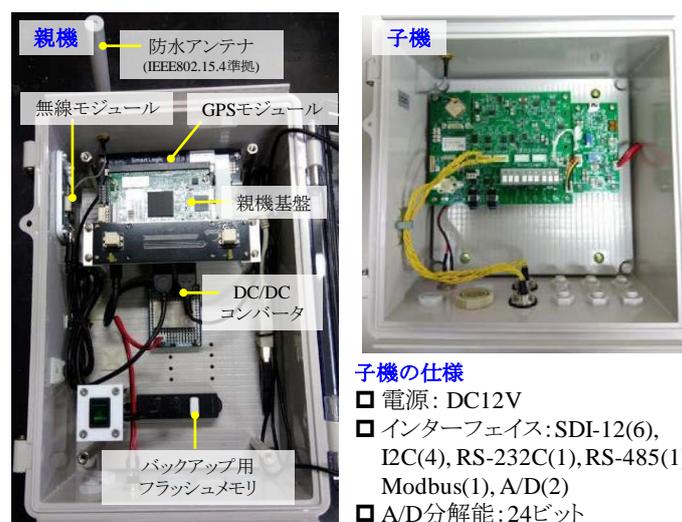


Photo2 統合型 IoT システムの親機(左)と子機(右)

用フラッシュメモリ等が搭載されており、約 15 W のソーラー発電装置により、10 分間隔の長期動作が可能である(Photo2)。子機には、SDI-12, I2C, A/D(24 ビット)等に対応した各種センサを接続でき、約 5 W のソーラー発電装置による長期動作と、最大 40 台の子機と親機とのリアルタイムの無線通信(IEEE802.15.4 準拠 2.4GHz)とサーバーへのデータのアップロードが可能である(Photo2)。また、スマートフォンやタブレットを用いて web ブラウザを操作することにより、データ・画像の閲覧とダウンロード、機器の遠隔操作、管理責任に応じたアクセス権の設定、アラートの設定等を行うことができる(Photo3)。さらに、親機に実装した GPS による座標データに基づき、Google Map 上にデータを表示する機能も有する(Photo4)。



Photo3 統合型 IoT システムの管理用 web ブラウザ



Photo4 Google Map を利用したデータの共有

2.2 熊本地震による斜面崩壊現場における実証(担当:宮本英揮, 中村真也, 協力: 大山正巳, 大北昭二, 平嶋雄太)

①実証試験サイトの位置と特徴

2016年4月に発生した熊本地震によって、大規模土砂災害が多発した熊本県阿蘇郡南阿蘇村の阿蘇山中央火口丘の最西端にあるY山南西急斜面を、統合型IoTシステムの実証試験サイトとした(Photo5, 6)。この急斜面および山頂付近には、熊本地震によって大規模な地割れが形成されており、その表層には黒ボク土と呼ばれる火山



Photo5 実証試験サイト(熊本県阿蘇郡南阿蘇村)の場所



Photo6 Y山南西斜面の航空写真

灰土が堆積している。山裾の国道 325 号線沿いには、多くの住民の居住区が存在するため、地割れの拡大や雨水の地下浸透に伴う土塊重量の増加が斜面崩壊の誘因となることが危惧されている。

②斜面における地表流の流れ

基盤地図情報ダウンロードサービス(国土地理院)より、熊本地震から約 2 週間後の土砂災害現場(Photo 6)の 5m メッシュ DEM データ(GML 形式)を入手した。解析範囲内を 6.16×5.2 m の空間グリッドで分割した。

地形解析は、対象グリッドとその周囲 8 つのグリッドとの標高差および勾配が最大となる方向を傾斜方向、またその角度を最大傾斜角(ϕ_{\max})と定め(Fig.7), Excel の VBA

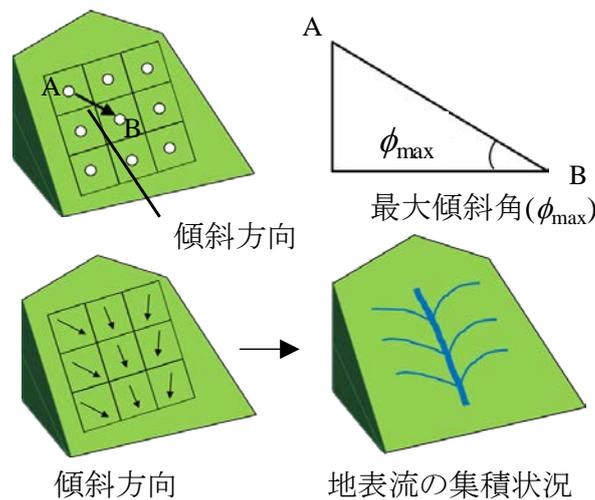


Fig.7 地表の累積流量解析の考え方

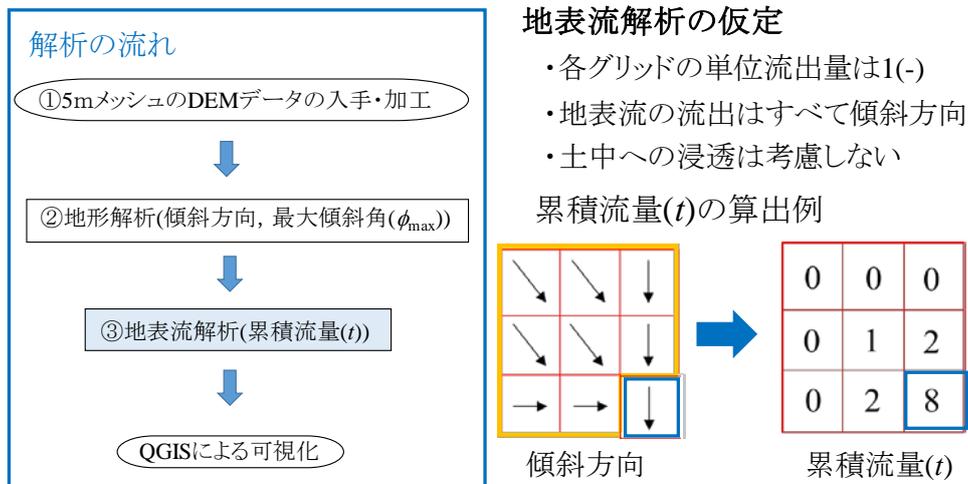


Fig. 8 地表の累積流量解析の流れ

を用いてそれらの空間分布を計算した。地表流解析は、「①各グリッドの単位流出量は 1(-), ②地表流の流出はすべて傾斜方向, ③土中への浸透は考慮しない」と仮定して実施した(Fig.8)。各グリッドに集積する流出量の合計, すなわち, 累積流量(t)の空間分布も Excel の VBA を用いて計算した後, QGIS を利用して地形および地表流の解析結果を重ね合わせた。

地表流解析を行った結果, 雨水は凹型斜面に集中することが判明した(Fig.9)。凹型地形を示す場所の最大傾斜角が大きく, 谷頭部周辺では 70° を超える場所も認め

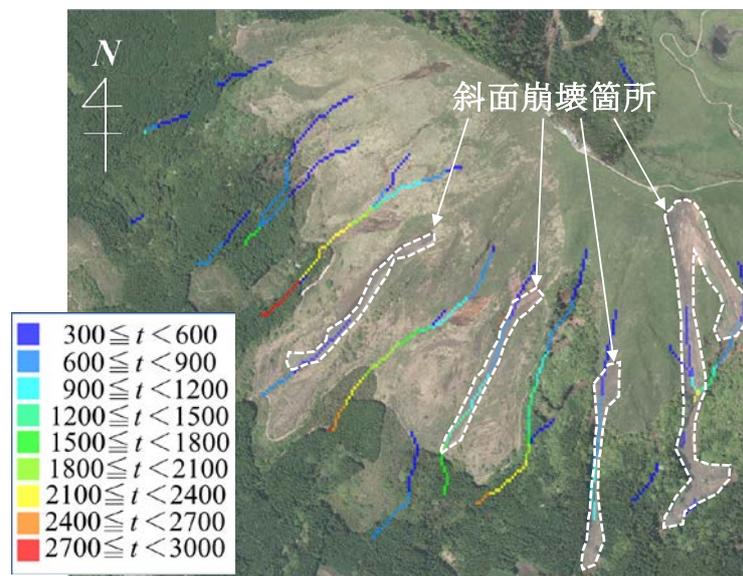


Fig.9 斜面崩壊箇所と累積流量(t)の空間分布

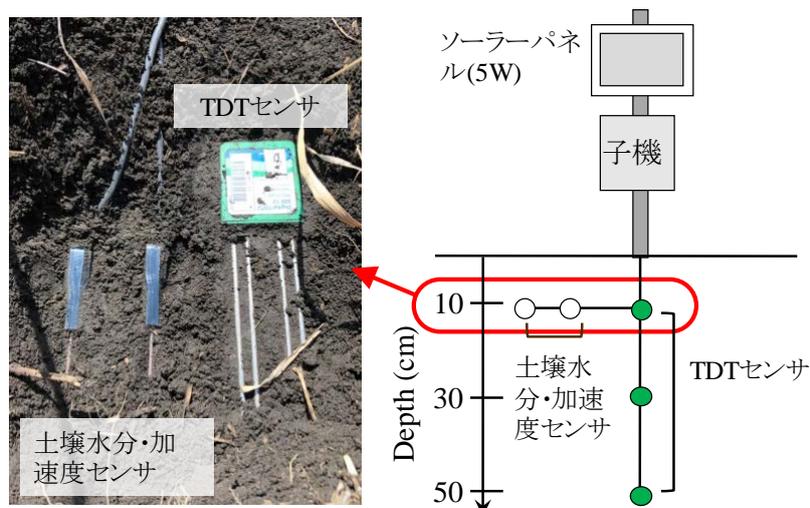


Fig. 10 斜面における土壌水分・加速度センサによるモニタリング

られた(図は割愛)。 $t \geq 300$ を満たすグリッドを抽出した結果、谷頭部を起点として谷線に沿って山裾方向に向かって増大する分布となった(Fig.9)。熊本地震発生以前の5 m メッシュ DEM データは一般に公開されていないため、これらの解析結果は地震発生以前の地表流の形態と必ずしも一致しないが、熊本地震発生後に撮影された航空写真から判別される斜面崩壊箇所と t が高い場所が概ね一致することが確認された(Fig.9)。

③斜面表層土の土壌水分・加速度のモニタリング

Photo6 に示した Y 山南西急斜面の計 4 地点(b, c, d, e)の深さ 10 cm に土壌水分・加速度センサを 2 個(#1, #2), そして TDT センサを 1 個埋設した。また、深さ 30 cm および 50 cm に TDT センサを埋設した。全センサを統合型 IoT システムの子機に接続した後、10 分間隔で各センサによる測定に着手した(Fig.10)。そして、2.4 節に述べた校正法に基づき、土壌水分・加速度センサによる体積含水率(θ)を TDT センサによるそれと比較した。また、 x, y, z 軸方向の加速度($\alpha_x, \alpha_y, \alpha_z$)より、各軸周囲の角度(ϕ_x, ϕ_y, ϕ_z)の変化を連続測定した。なお、本研究では、2019 年 3 月 29 日(DOY87)にセンサを設置した e 地点に着目し、データを詳細に解析することとした。

土壌水分・加速度センサにより、斜面の θ および地盤の異常の有無を把握できた。植物根の伸長や乾燥密度の不均一性等が原因で、e 地点に埋設した 2 つの土壌水分・加速度センサ(#1, #2)による θ と TDT センサによる θ には差異が認められたが、DOY178 までは、両者の挙動は概ね一致した(Fig.11)。DOY185.96 に、#2 による θ が急減したのと同時に、 α_x が急変し(図は割愛)、さらに ϕ_x も急変した(Fig.12)。

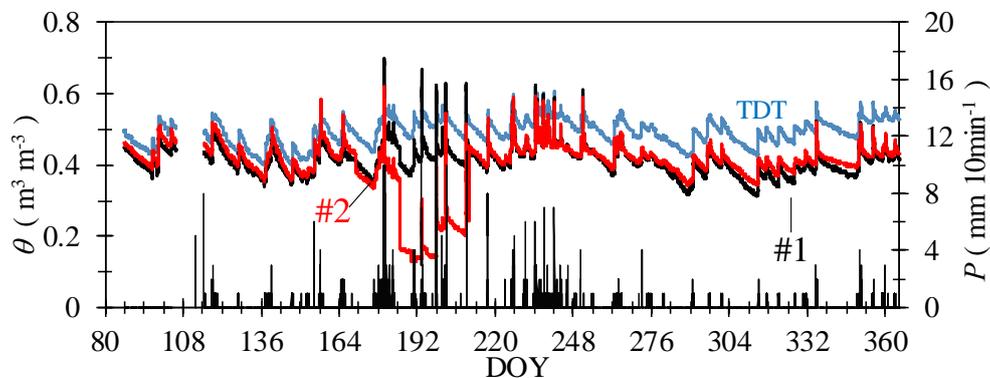


Fig.11 体積含水率(θ)および降水量(P)の経日変化

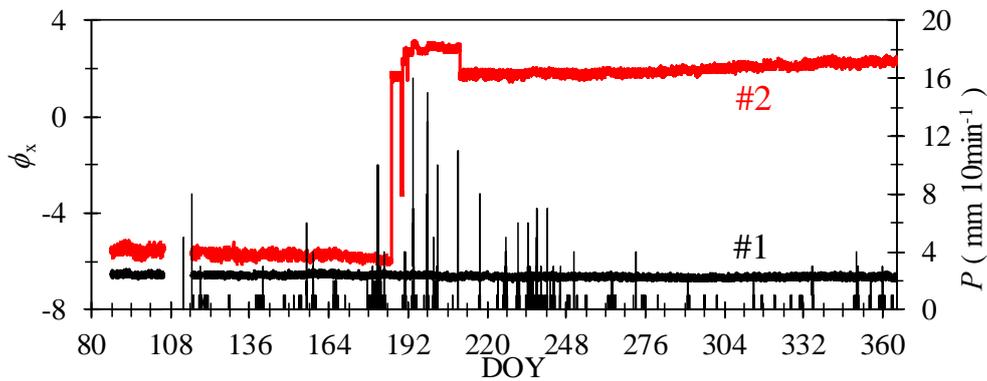


Fig.12 x 軸回りの角度(ϕ_x)および降水量(P)の経日変化



Photo7 e 地点のセンサ埋設場所付近の陥没

x 軸の場合と類似した加速度および角度の変化は、 y 軸および z 軸においても認められた。DOY210 に e 地点周辺の土壌を調べたところ、#2 の埋設場所付近に円形の陥没が認められた(Photo7)ことから、偶発的な土の構造変化による θ および加速度・角度の急な変化であったと考える。#2 のセンサを埋設しなおした DOY210.46 以降は、土壌水分・加速度センサによる θ は同一深度に埋設した TDT センサによるそれと同様に、降雨と連動した増減を示した。本観測期間中に発生した計 4 回(DOY129.32, 129.37, 130.75, 325.75)の最大震度が 3 以下の地震や、降雨に伴う θ の変化条件において、 x 軸を含む各軸回りの角度の顕著な変化は認められなかった(Fig.12)ことから、本研究の観測期間に生じた降雨による θ の増大および地震動を誘因とした斜面崩壊の兆候は、認められなかったと判断した。

2.3 学会, 論文等への成果発表

- 1) 宮本英揮, 中村真也, 大山正巳, 平嶋雄太, 大北昭二, ユーザー中心設計による統合型 IoT プラットフォーム開発, 農業農村工学会, 2019.
- 2) 牧 貴広, 平嶋雄太, 藏座隆寛, 宮本英揮, 統合型 IoT システムを活用した蒸発散位の測定, 日本生物環境工学会, 2019.
- 3) 宮本英揮, 中村真也, 大山正巳, 平嶋雄太, 大北昭二, 農業環境研究のための統合型 IoT プラットフォーム, 土壌物理学学会, 2019.
- 4) 中島綾美, 生野慎太郎, 平嶋雄太, 中村真也, 宮本英揮, 火山灰斜面における土壌水分および三軸加速度の同時モニタリング, 土壌物理学学会, つくば市, 2019. 10. 26.
- 5) 牧 貴広, 平嶋雄太, 藏座隆寛, 白濱智子, 宮本英揮, 農地環境計測への統合型 IoT システムの適用, 土壌物理学学会, 2019.
- 6) 牧 貴広, 宮本英揮, 機械学習を利用した裸地表面における水収支の予測, 土壌物理学学会, 2019.

3. 研究の総括と今後の課題・展望

①研究の総括

土壌水分・加速度センサを実装した統合型 IoT システムの運用期間内に発生した降雨や地震等のイベント発生時に, 斜面崩壊に直結する斜面の異常は検知できなかった。本システムの実証には, 様々な気象・地震発生条件下における更なる運用とデータの蓄積が必要であるが, 本年度の観測においても, 比較的高い精度で斜面崩壊の誘因となる土壌水分量に加え, 斜面表層の軽微な陥没を精度よく検知できた事実を勘案すると, 本システムは斜面崩壊の前兆を迅速に把握する強力な手法になり得ると考えられる。ただし, 人命に関わる事象を監視対象とするため, 誤った情報の拡散による社会不安を煽らないよう, 測定値の精度やデータの公表方法については, 細心の注意を払う必要がある。市町村や県と協力して, 統合型 IoT システムの最善の運用方法を検討することが, 今後, 必要となろう。

②次年度に向けての課題・計画・展望等

本研究の観測期間内には、斜面崩壊に繋がり得る兆候は認められなかったものの、斜面の表面において生じた軽微な陥没ですら検知できた事実から、土壌水分・加速度センサを搭載した本システムは、斜面崩壊の早期検知ツールとして有望であると考えている。現在も、斜面土壌の水分・加速度に加え、併設した各種観測機器を用いて降水量、気圧、温度、湿度、高速中性子数等を計測中である。的中率が4%に満たない現行の土砂災害警報の高度補完技術として、本システムを活用した斜面崩壊の早期検知の社会実装に加え、それらの事象の発生を予測できるよう、ビッグデータと人工知能(AI)を活用した斜面崩壊の予測技術の構築を目指す予定である。そして、ハード対策主体の防災対策から、情報基盤・データを活用する減災対策へシフトする方途を示すことにより、自然との共生を目指す農学的視点に立脚した“自然災害と共に生きる新たな農山村経営やライフデザイン”を提起したい。

③科研費等の競争的外部資金への応募計画

本研究を通して獲得した技術基盤を基に、土砂災害の早期検知および予測に関する研究開発を加速させるために、本研究グループは、科学研究費補助金の挑戦的研究(萌芽)、基盤研究(B)、基盤研究(C)をはじめとした各種外部資金の積極導入を図る予定である。

4. 支援金の執行内訳

支援金の執行内訳

(単位：円)

費目	金額(税込)	内訳(品名、旅行先等)
物品費	2,517,251	IoTシステム(親機、子機)、中継器、ソーラー電源システム、センサ類、データ解析システム、観測システム設置機材一式、センサ校正用試料等
人件費・謝金	0	なし

旅 費	475,324	観測機器設置作業, 調査, 保守・管理, 成果発表(農業農村工学会, 土壌物理学会)
そ の 他	7,425	物品送料(IoT システム, センサ類)
合 計 金 額	3,000,000	

謝辞: 熊本県および南阿蘇村の協力を得て, 本研究を実施した。ここに記して謝意を表す。

引用文献:

- 1) 宮本英揮, 下町多佳志, 筑紫二郎, 安永円理子(2008): マイクロ波信号領域における粘土の誘電特性, 土壌の物理性, 110: 13 - 23.
- 2) Topp, G. C., Davis, J. L., and Annan, A. P. (1980): Electromagnetic determination of soil water content: measurements in coaxial transmission lines. Water Resour. Res., 16: 574 - 582.
- 3) 宮本英揮, 筑紫二郎(2006): 誘電混合モデルによるカラム内壁面接着型 TDR プローブのキャリブレーション, 土壌の物理性, 104: 5 - 12.

令和元年度連合農学研究科先進的研究推進事業報告書

島嶼における病原微生物の生態学研究を加速する

分子生物学的研究基盤の構築

研究代表者 琉球大学農学部 農水圏資源環境科学専攻

関根 健太郎

2018年3月

【研究の組織と役割分担】

	氏名及び職名	所属大学・専攻	研究の役割分担等
代表者	関根 健太郎・ 准教授	琉球大学・農水圏資 源環境科学専攻	研究統括. 植物におけるゲノム編集技 術の確立.
分担者	中村 正幸・ 准教授	鹿児島大学・農水圏 資源環境科学専攻	炭疽病菌におけるゲノム編 集技術の開発.
	田場 聡・ 教授	琉球大学・農水圏資 源環境科学専攻	炭疽病菌のジェノタイプ ング技術の開発.
	大島 一里・ 教授	佐賀大学・農水圏資 源環境科学専攻	炭疽病菌のゲノム解析と分 子系統解析.

1. 研究の目的と概要

① 研究の目的

鹿児島連合大学院には様々な動植物・微生物を対象とした研究者が多く、中でも地理的隔離、亜熱帯性気候帯に分布する島嶼の遺伝資源の理解や改良、生物多様性の保全は、九州・沖縄への貢献、アジア・アフリカ等の発展において重要であり、連大のフラッグシップ的研究の一つである。農業生産現場での病害は、地域社会における課題であり、先進的かつ学術的な生態学研究の推進が病害防除に直結するため、各構成大学の地域貢献というミッションの達成につながる。これまで申請グループでは、多種多様な作物の重要病害の原因である炭疽病菌(*Colletotrichum* 属)を島嶼地域の特有作物から新規病原体として単離している。各作物の病原体としての特徴付けがすすめられてきた一方で、生態的な分布調査、他種作物間の水平伝播などの情報がなく、これらを明らかにすることで、病原体の感染拡大、宿主適応機構の理解につながる。また、作物の宿主・非宿主抵抗性機構研究の材料として優れており、持続的農業の実現に資する。炭疽病菌の種の分類は、近年体系的に見直され、既知の種であったものが再分類により新種になることも珍しくない。そこで本研究では、亜熱帯島嶼における炭疽病菌の生態学的研究を推進するための分子基盤として、炭疽病菌のゲノム情報の整備と種判別法の開発、並びに、植物-病原体の相互作用研究を加速するゲノム編集技術の確立を目指し、これによって連大の農学研究におけるゲノム情報を活用した先進的分子生物学的研究を促進する。

② 研究の概要

本研究グループでは、多種多様な作物の重要病害である炭疽病菌(*Colletotrichum* 属)を島嶼地域の特有作物から新規病原体として単離している。各作物の病原体としての特徴付けがすすめられてきた一方で、生態的な分布調査、他種作物間の水平伝播などの情報がなく、これらを明らかにすることで、病原体の感染拡大、宿主適応機構の理解につながる。また、作物の宿主・非宿主抵抗性機構研究の材料として優れており、持続的農業の実現に役立つ。炭疽病菌の種の分類は、近年体系的に見直され、既知の種であったものが、再分類により新種になることがしばしば見られる。そこで本研究では、亜熱帯島嶼における炭疽病菌の生態学的研究を推進するための分子基盤として、1)炭疽病菌のゲノム情報の取得、分子系統解析による種の分類の整理を行い、2) DNA クロマト法を活用した種識別マーカーの作成を目指した。植物-炭疽病菌の相互作用研究を加速するため、3)炭疽病菌におけるゲノム編集技術を確立し、さらに4) 亜熱帯性植物の逆遺伝学的な実験系の確立を目指した(図1)。



図1. 研究概要

2. 研究の成果

① 炭疽病菌のゲノム解析と分子系統解析 (田場, 中村, 大島)

研究グループは、これまでにマンゴー、サンセベリア、カニステル、ジャボチカバ、ピタヤ、ドラセナなど島嶼の亜熱帯性作物の罹病植物から *Colletotrichum* 属菌(炭疽病菌)を分離してきた(Nakamura et al. 2018 Data in brief など). 炭疽病菌には多様な種が存在し、一つの病斑部から複数種が混在する種複合体を形成している場合なども知られており、胞子が付着すると、宿主植物、環境など複雑なコンテキストの条件が揃った場合に病害として露見するため、伝染源や発生生態を理解することがたいへん難しい. そこで、本研究では、構成大学で保有又は新たに発生した炭疽病菌株の種の同定(琉球大学)とドラフトゲノム情報の取得(鹿児島大学:サンセベリア炭疽病菌 *C. sansevieriae*, 琉球大学:ジャボチカバ炭疽病菌 *C. tropicale*)を実施した. ゲノム解析と分子系統解析は、これまでウイルスを材料として十分な実績を有する大島の指導の下、各機関において実施した.

琉球大学では、病原未同定で炭疽病様の病徴を呈するいくつかの罹病植物より病原体候補糸状菌を分離した. サラセニア(食虫植物)の炭疽病菌による病害と推定される罹病組織から分離した糸状菌のApMat領域のシーケンスの結果、*Colletotrichum jiangxiense* と99.47%の同一性が認められた. 報告書作成時現在、新病害として病原性の確認や形態観察による種の同定についての実験を実施している(図2).

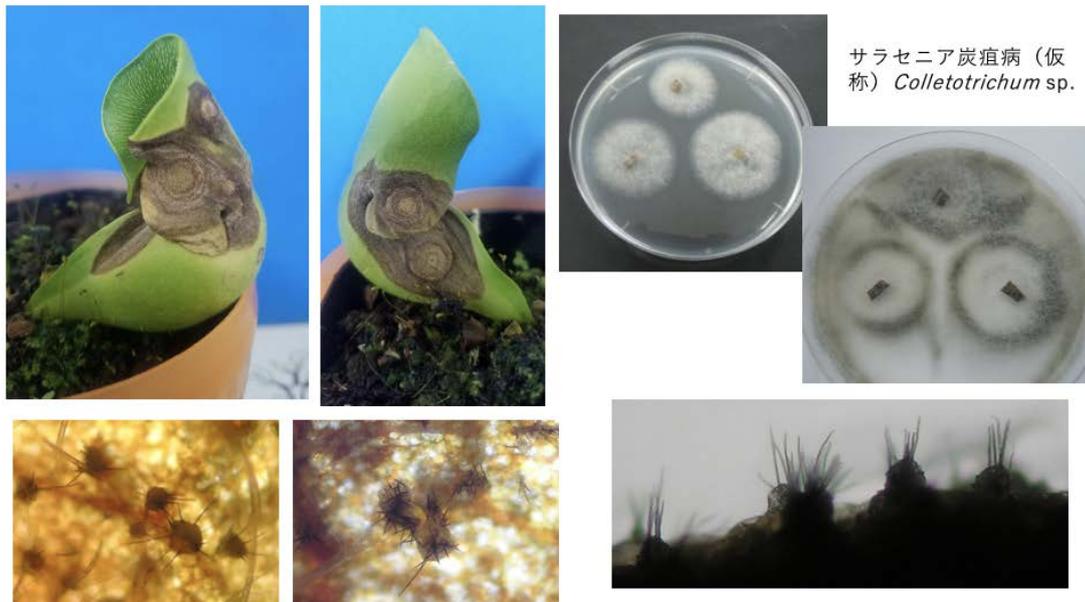


図2. サラセニアの炭疽病菌による新病害

また、形態的に *Colletotrichum gloeosporioides* (*C. siamense*) と *C. acutatum* (*C. fioriniae*) の中間的特徴を持つマンゴー炭疽病の未同定種について、分子系統解析によって *C. fructicola* と判明した(図3).



マンゴー炭疽病
形態的に *Colletotrichum gloeosporioides* (*C. siamense*) と *C. acutatum* (*C. fioriniae*) の中間的特徴を持つ。

形態学的な同定は不可能であったが、分子学的同定を行った結果、*C. fructicola* Prihastuti, L. Cai & K.D. Hyde と判明した。

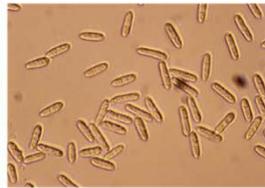
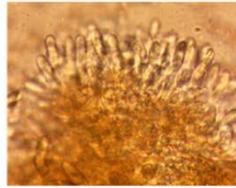
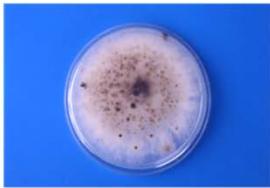


図 3. 病原未同定であったマンゴー炭疽病菌の分子生物学的な種同定

一方、沖縄美ら島財団の生産圃場（沖縄県本部町）で発生した壞疽を伴う（炭疽病の疑い）カラシコエについては、炭疽病菌は検出されず、ITS 領域のシーケンス解析から *Colletotrichum* 属以外の糸状菌が病原候補として挙げられた。こちらは新規病害として今後病原体を特定していく予定である。

鹿児島大学では、*C. sansevieriae* のドラフトゲノムとして、次世代シーケンサーから得られた 80,814,390 リードを *de novo* assemble して 5,523 のコンティグを得ることに成功した。20x 以上の十分なリード数が得られた。琉球大学においては、*C. tropicale* のドラフトゲノム構築を目指した。MiSeq（イルミナ社）によって推定ゲノムサイズの 30 倍以上に当たる 1.5Gbase 以上の塩基配列情報を得た。ドラフトゲノム構築に資するロングリードの塩基配列情報を得るため、ナノポアシーケンサー MinION（オックスフォードナノポア社）を使って塩基配列情報の取得を試みたが、機器の不調（ポアの 95% が不能）で利用可能なシーケンスデータが得られなかった。こちらは年度明けに改めて解析を試行する予定である。

② 炭疽病種判別分子マーカーの開発(田場, 関根; 協力:株式会社ファスマック)

種特異的な遺伝子領域を個々に見つけ、マルチプレックス PCR による種判別マーカーを作成した（非公開）。これを利用して、DNA クロマトグラフィーを応用した簡易なジェノタイプング手法の基礎技術を確立した（非公開）。当該技術の先行研究として、DNA クロマトグラフィーを利用したトマト黄化葉巻ウイルスの検出法を確立した（図 4; 令和 2 年度日本植物病理学会大会発表, 論文投稿準備中）。



図4. DNA クロマトグラフィーを利用したトマト黄化葉巻ウイルスの検出

③ 炭疽病菌のゲノム編集技術の確立 (中村, 関根)

研究グループでは宿主-病原体相互作用を分子レベルから紐解くことを目指して感染生理研究を実施してきた. 特に「植物の抵抗性」, 「病原体の宿主適応」という観点から, 親和性・非親和性を決定する宿主植物側ならびに炭疽病菌側の遺伝子の同定を目指し, これに資する炭疽病菌および植物(モデル植物)におけるゲノム編集技術の確立を本事業の中で目指した. CRISPR/Cas9 システムを利用したサンセベリア炭疽病菌の遺伝子破壊株作成に成功し, 従来の遺伝子破壊方法と比べ非常に効率の高い方法を確立した(図5, 6). これを論文としてまとめ発表した(Nakamura et al. 2019 Scientific Report). 報告書作成現在, まだ確立できていないが, 鹿児島大学の確立した技術を琉球大学保有のマンゴー炭疽病菌への適用を試みている.

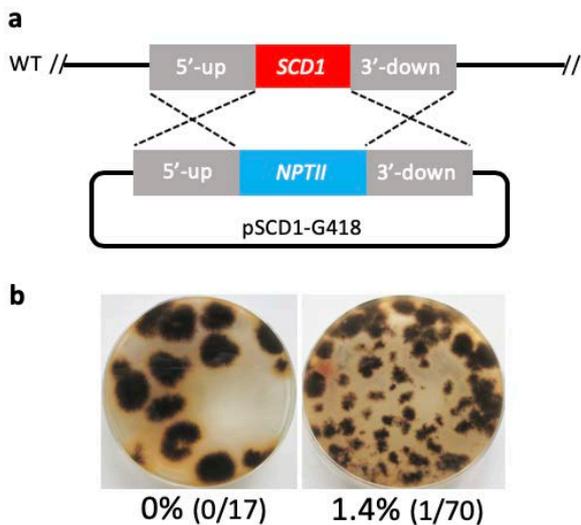


図5. 従来の方法による遺伝子破壊.

a. ドナーDNA(NPTII)のシタロン脱水酵素遺伝子(SCD1)へのノックイン. b. プロトプラス 5×10^6 個(左), 1×10^8 個(右)の濃度で得られたメラニン合成欠損株(ピンク色)の出現率.

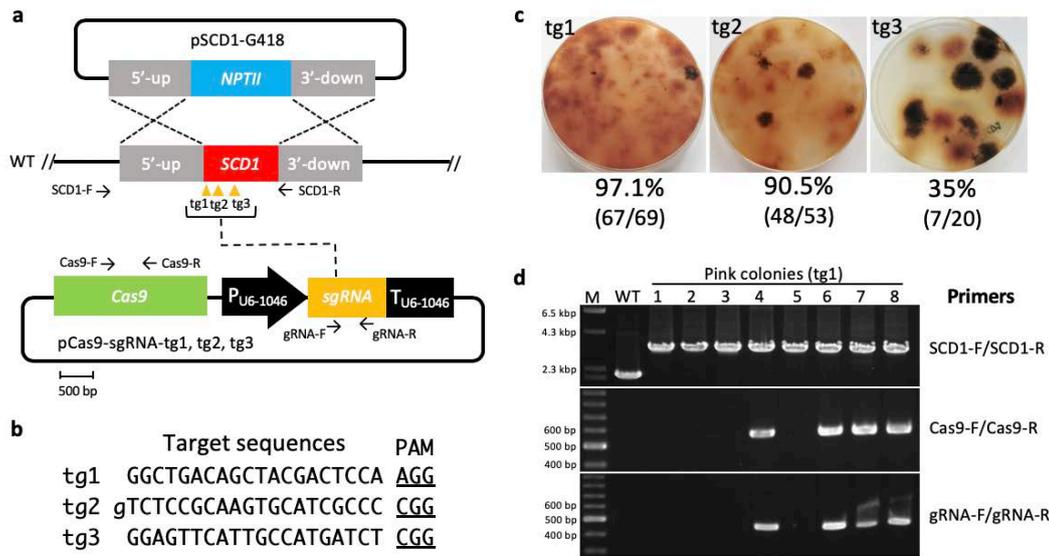


図 6. CRISPR/Cas9 システムを用いた SCD1 遺伝子の破壊効率.

a. 相同組換え修復経路による遺伝子破壊. b. 3つのプロトスペーサー領域と PAM 配列. c. プロトプラス 5x10⁶ 個を用いて得られたメラニン合成欠損株（ピンク色）の出現率. d. SCD1 の遺伝子破壊（上段），Cas9 の挿入（中段），gRNA の挿入（下段）の PCR 確認.

④ 植物のゲノム編集技術の確立（関根，田場；協力:OIST 佐瀬，美ら島財団佐藤）

これまでシロイヌナズナと *Colletotrichum higginsianum* を利用した研究においては glycerol-3-phosphate (G3P) が全身獲得抵抗性の誘導シグナルであることを明らかにした (Chanda et al. 2011 Nature Genetics). さらに G3P の生合成経路に変異を持つシロイヌナズナにおいては非宿主抵抗性が機能しなくなることを明らかにしているため，ゲノム編集によって G3P 代謝に関わる遺伝子のノックアウトを試みた（琉球大関根・田場）. シロイヌナズナのゲノム編集技術は沖縄科学技術大学院大学 (OIST) の佐瀬博士の協力の下，取り組んだ. しかし，琉球大学の植物病理学研究室内の植物育生環境では，アグロバクテリウムを用いたシロイヌナズナの形質転換が成功しなかった. 室内の気温がシロイヌナズナの生育適温より高かったこと，アグロバクテリウム感染後の養生の方法が検討課題と考えられた. 現在，グロースチャンバー内でシロイヌナズナを育生してアグロバクテリウム感染試験を実施している. 一方で，*Nicotiana benthamiana* におけるアグロバクテリウムの一過的発現実験系については，GFP を持たせたウイルスゲノム (PIAMV) を発現させることに成功した (77). 東京農工大小松博士と共に，ウイルスの持つジーンサイレンシングサプレッサー活性を評価する実験系の確立を目指して共同研究が開始された. アグロバクテリウムによるウイルスベクターの感染実験

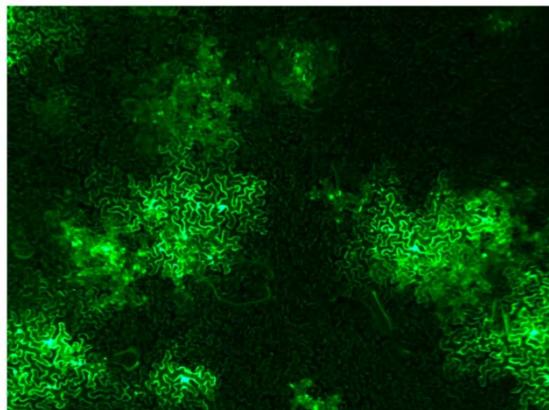


図 7 PIAMV-GFP ウイルスの発現実験

系ができたことから、さらに、ゲノム編集技術の確立と並行して、ウイルスベクター（TRVベクター）を利用したノックダウン実験系の確立を目指している。また、熱帯性植物（パイナップル、マンゴー、パッションフルーツ、バナナ、リュウキュウアイ）への適用も検討し、培養実験系の構築を試みた。一般財団法人美ら島財団の佐藤氏・徳原氏の協力のもと、これら植物の培養実験系の構築に取り組んだ。パイナップル、バナナについては培養実験系が確立できているが、それ以外の植物は根が生えないなどの問題があり、培養の条件検討を実施中である。

⑤ 論文成果

Nakamura M, Okamura Y, Iwai H. Plasmid-based and -free methods using CRISPR/Cas9 system for replacement of targeted genes in *Colletotrichum sansevieriae*. (2019) Scientific Reports 9:18947

Taba S, Fukuchi K, Tamashiro Y, Tomitaka Y, Sekine K, Ajitomi, A, Takushi T. First report of anthracnose of jaboticaba caused by *Colletotrichum tropicale* in Japan. (2020) Journal of General Plant Pathology 86:65-69

3. 研究の総括と今後の課題・展望

植物病理学を専門とする研究者がそれぞれの強みを生かして、炭疽病菌と植物間の相互作用を明らかにする上で必要な分子生物学の基礎的技術を開発・共有することができた。これにより（1）炭疽病菌の分子系統解析やゲノム情報の取得に成功し、（2）その得られた病原体遺伝子資源を用いて、DNA クロマトグラフィーを利用した新たな遺伝子判別技術を開発できた。さらに病原糸状菌のゲノム編集技術を確立し、ゲノム情報と合わせて逆遺伝学的実験が可能となった。（4）植物のゲノム編集については事業期間には成功しなかったが、沖縄科学技術大学院大学の佐瀬博士においてはシロイヌナズナ、イネにおいて、技術を確立しており、また玉川大学の奥崎博士と情報交換することにより、琉球大学においても植物のゲノム編集が可能となる見込みが高い。これまで琉球大学では実施されていなかった、一過的遺伝子発現実験として、アグロバクテリウムを用いたウイルスベクターの感染実験を立ち上げることに成功したため、本事業で分子生物学的な実験手法の整備がなされたことは大きな成果である。今後の展望を以下に記載する。

1) 島嶼における病原体の進化・生態学研究 → 連大生態学研究、地域農業振興への貢献

マクロなフィールドにおける炭疽病菌の分布調査を実施する。南西諸島の各島で共通する作物の炭疽病の発生状況と、その病原体種の特定を行う。沖縄本島であれば北部・中部・南部。また、作物種間の炭疽病菌の水平伝染の可能性について検証する。グループとして科研費の基盤研究などの獲得を目指す。病原微生物の生態学的研究は、農業従事者やその関係研究機関と情報共有することで、病害防除につながる可能性が高く、島嶼の地域農業への貢献も十分期待できる。抵抗性作物の育種に関しては農林水産省の競争的資金の獲得を目指す。さらに炭疽病に関わらず、各構成大学の研究者の研究対象病原体（糸状菌・細菌・ウイルス・線虫）への応用も期待できる。これに加えて、植物病理学会九州部会や沖縄県の農業

病害に関する研究者の勉強会である作物保護検討会などで成果を発信することで当該研究の活性化が見込める。地域農業振興への貢献によって、大学生の研究意欲を向上し、連大進学へ結びつくことや、公設研究機関の研究者の連大入学のきっかけになることも期待できる。

2) 分子生物学的手法による感染生理研究 → 連大分子生物学研究の底上げ，国際競争力の強化

継続して炭疽病菌や植物のゲノム編集技術の確立を目指す。確立する技術を利用することで病原体の感染生理の理解を加速できる。病原体の病原性因子や宿主の抵抗性に関わる分子機構の全容はまだ明らかとなっていない。病原体の宿主適応や、病原体に対する宿主の応答を分子レベルで理解することで、国際的にインパクトのある研究成果を発信できる。特に植物-病原体の相互作用においては、各構成員の主たる研究内容について各々科研費の基盤研究の獲得を目指す。本研究グループでは、関連する研究課題において令和3年度の科研費基盤研究Bへの応募を検討している。さらに、亜熱帯気候の作物の研究は十分にされていない現状であり、アジア・アフリカの農業振興を牽引する農学研究を発展させ、国際研究拠点形成事業や JICA のプログラムなど公募型の研究資金獲得も視野に入れる。

3) 連大構成員への積極的な技術普及 → 研究者間の交流・研究アクティビティの活性化

今回確立した、もしくは、今後確立するゲノム解析、ジェノタイピング、ゲノム編集技術については、実際の活用例を見ただけで簡易に導入できるものではないため、学内もしくは連大内で技術を導入したい研究者からの求めに応じて、研修の受け入れや、ワークショップ講師の派遣などを通じた研究協力を積極的に実施する。

4. 支援金の執行内訳

(単位：円)

費 目	金額 (税込)	内訳 (品名, 旅行先等)
物 品 費	2,004,570	薬用冷蔵ショーケース (琉球大) 超低温フリーザー (琉球大) サーマルサイクラー (鹿児島大) 消耗品類
人件費・謝金	352,247	琉球大 人件費 (研究補助員) 242,247 円 佐賀大 謝金 (2名分) 110,000 円
旅 費	123,917	琉球大 沖縄県内調査旅費 (2回) 3,917 円 佐賀大 ウイルス採集旅費 120,000 円
そ の 他	219,266	鹿児島大 論文投稿料 219,266 円
合 計 金 額	2,700,000	

令和元年度連合農学研究科先進的研究推進事業報告書

洪水による作物の水ストレス障害の軽減と抵抗性品種の育成

研究代表者 鹿児島大学部
生物生産科学専攻
連合講座
坂上潤一

研究の組織と役割分担者

	氏名及び職名	所属大学・専攻	研究の役割分担等
代 表 者	坂上潤一（教授）	鹿児島・生物生産科学	総括・作物成育モデル開発
分 担 者	鄭紹輝（教授）	佐賀・生物生産科学	ダイズ等の水ストレス反応性解明
	藤田大輔（准教授）	佐賀・生物生産科学	イネの冠水耐性系統の作出
	Md. Amzad Hossain（教授）	琉球・生物生産科学	アマランサスの湛水反応性解明
協 力 者	藪田伸（特任講師）	鹿児島・農学部	畑作物の湛水適応性向上の補助
	中尾祥宏（D2）	鹿児島・生物生産科学	作物の嫌気・好気変化適応メカニズム補助
	Izza Arinal Haq Izzawati	鹿児島・生物生産科学	イネの完全冠水耐性の生理メカニズム解明補助
	Nurrahma（D2）		
	Phantasin Kantavong（10月～D1）	鹿児島・生物生産科学	作物の成育モデル開発補助

1 研究の目的と概要

① 研究の目的

地球温暖化（以下温暖化）が進むと、気温が上昇するだけでなく地球全体の気候が大きく変化する。既に世界各地では、そのさまざまな影響が現れ始めており、自然環境や人の暮らしにも重大な問題を引き起こしている。こうした問題は、温暖化への対策を十分に行わない場合、さらに深刻化し、地球規模的に被害が拡大する危険性が指摘されている（IPCC 第5次評価報告書 2014）。21世紀中の温暖化は、極端な異常気象や海面上昇などの長期的な影響の両方によって、大規模な人々の移住をよぎなくさせると予測されており、特に温暖化の影響に弱い開発途上国において、強く懸念されている問題である。こうしたすでに貧困や飢餓に苦しむ地域に、さらに温暖化の被害が加わることは、内戦や武装勢力などの間で生じる暴力的な紛争のリスクを増加させる可能性がある。一方で、温暖化に起因する洪水と干ばつは、農業生産にも大きな影響を及ぼしている。特に経済力の無い開発途上地域の小規模農家はこれら気候変化への対応が難しいため、農業生産性が極端に低下する可能性が高い。以上のような問題を解決していくためには、温暖化の原因の「軽減策」に加えてその環境への「適応策」が必要であると考えられる（坂上 2016）。48カ国からなるアジア地域は、世界の陸地の24%に過ぎないが、そこに世界人口の約60%が暮らしている。さらに、モンスーン地帯に限れば世界人口の54%が集中している。これらの地域では、湿潤な気候のために古くから水田作がおこなわれてきた。このように豊富な水資源を農業生産に利用する一方で、過剰な降雨など水環境は洪水を引き起こし、毎年のようにイネの冠水被害が報告されている。また、国内では水田における田畑輪換や水田放棄地の有効利用が試みられてきたが、畑作物は過剰水に感受性で湿害が発生しやすい。激甚災害に指定された2018年7月豪雨では、30道府県において水稲および畑作物等で約2.1万ヘクタール、88億円の被害があった（農林水産省 9月26日発表）。また、1919年から2018年まで100年間の鹿児島県の年間降雨量は増加が認められ、特に年次変動が拡大していることが明らかになっている。

2019年の6月末から7月にかけて鹿児島を含む南九州を大雨やゲリラ豪雨が襲った。気象庁によると（<https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>）、鹿児島市の7月の平均降雨量は310mm（1883年から2018年までの平均）であるのに対し、2019年は1006mmと、過去平均の3倍以上の雨量を新記録した。また、降雨量の増加に伴い、日照不足も問題となった。2019年では、日照時間は4月の198時間に比べると7月は139時間と少なかった。農業においては、耕作シーズンと重なるために、多くの被害が報告された。2019年7月23日付の鹿児島県の報告「令和元年6月末からの大雨による被害状況」（http://www.pref.kagoshima.jp/aj07/documents/73107_20190726170156-1.pdf）では、農作物が約340haの耕地で被害があり、その被害額は約9千万円と試算された。その中で、水稲や野菜作での被害が比較的多く、水稲においては、移植後の冠水害、野菜においては、湿害による影響であったと推察された。このように、昨年度を例に、不安定な降雨量による農作物への被害は拡大する可能性がある。

以上の様な問題を解決するために、代表者らは特にイネの湛水・冠水耐性機能の評価と栽培管理技術の向上に関わる研究を進めてきた。遺伝生理学的には、イネ栽培種アフリカイネ (*O. glaberrima*) は、短期完全冠水に感受性を示すことを認めた。また、*SUB1* 遺伝子のイネは、アフリカのフィールド環境でも冠水耐性を示すことを世界で初めて明

らかにし、短期完全冠水中のイネの葉乾物生産増加と解除後の草丈の間には、正の相関関係があることを明らかにした。さらに、*O. glaberrima* の長期冠水下における地上部伸長と水面上葉面展開力による純同化率の向上の特徴を明らかにした。同様に、*O. glaberrima* 品種の冠水期間中の高い個葉光合成能力による長期冠水回避性の特徴を明らかにした。生態学的には、*SUB1* イネの冠水による光合成産物の転流の特徴を明らかにした。また、イネの葉身クロロフィル蛍光の水中測定を世界で初めて成功させた。加えて、完全冠水によるイネの地上部伸長と葉身クロロフィル崩壊の関係を生態学的に明らかにした。一方で、九州地域で適応する冠水耐性品種の育成、栽培管理技術の向上による耐性強化、また、畑地作物の湛水耐性向上の課題については十分に議論されていない。近年の降雨量の変動は、温暖化の影響が強く、温度上昇により益々降雨量の変動さらにはパターンの変化を増大する可能性がある。本研究は以上の問題を解決するために、有望作物の不良環境に対する潜在的適応性の評価、畑作物の湛水耐性向上、水ストレス抵抗性系統の作出の研究を通して、九州・沖縄地域において、今後起こりうる可能性の高い降雨量の変動に適応する作物生産体系の基盤開発を目的とした。

② 研究の概要

本研究の研究計画及び方法は以下の通りである。

1) 冠水耐性品種育成のための材料の作出 (佐賀大学・藤田, 鹿児島大学・坂上)

耕地の洪水は、植物体が完全に水に浸る冠水と、一部が水に浸る湛水とに分けられ、それぞれの植物の生存戦力とそのメカニズムは冠水と湛水間で異なっている。冠水耐性 *SUB1* イネは冠水中に炭水化物を起源とする抗酸化物質であるアスコルビン酸を多く有しており、冠水解除後の活性酸素による障害が感受性イネに比べて小さい (Kawano ら 2002)。また、*SUB1* イネは冠水中の草丈の伸長を抑えることによりエネルギー消費量を最小限にして、短期冠水を乗り切る生存戦略を選択していると考えられる。さらに、冠水下でのイネのエチレンに対する感受性を低下させるとともに、スクロース合成酵素と細胞の伸長にかかわる遺伝子エクспанシンの発現を抑制している。このような内生物質作用は特定の遺伝子によって支配されていることが分かっており、*SUB1* 遺伝子がそれらに密接に関連していることが明らかになっている (Xu and Mackill 1996)。近年に東南アジアの主力品種に *SUB1* 遺伝子を導入して、地域に適応した冠水耐性イネが育成されている。本研究は、現在までに試みられたことのない、日本型品種コシヒカリに *SUB1* 遺伝子を導入して、日本型冠水耐性品種を育成することが目的である。そのために、本年は第一代目の品種間交雑を行い、FR13A とコシヒカリの交雑による F1 世代を育成した。

2) 畑地作物の湛水抵抗性評価と選抜 (鹿児島大学・坂上, 佐賀大学・鄭, 琉球大学・ホサイン)

我が国では水田の高度利用を目的とした転換畑への畑作物の導入が図られているが、コムギ、ダイズやトウモロコシなどでは過湿害による収量の低減が大きな問題となっている。湿害克服のための技術として、地下水の低コスト制御システム FOEAS を利用した生産技術体系が導入され一定の効果は得られている。反面、作物学的な改良研究においては十分な成果があがっていない。これは畑作物の耐湿性に汎用性のある効果的検定法が十分に確立されていないことが要因の一つである。畑作物に共通して湿害発生の要因となる作物形質は、通気組織、根の木化、根の分布、発根力、光合成、呼吸および酸化還元力等である (川口 2010)。研究代表者らは、現在までに湛水条件下でのサトウキビ等畑作

物の通気組織と成育の関係を明らかにする研究に取り組み湛水抵抗性に関連した有用な知見を得ている。湛水抵抗性を示す品種 (Ni22) は根端にまで通気組織が形成しているのに対して、感受性品種 (NiF18) の根端の通気組織は形成されない。このことが畑作物の湛水抵抗性に関与している可能性が高い。他方、植物の発芽時の冠水はその後の生育および収量への影響が甚大であるが、代表者らは冠水によるイネ種子発芽への影響は品種および種によって大きく異なることを明らかにしてきた (El-Hendawy ら 2011, 工藤・曾根 2017)。本研究においては、多様な水性作物と比較して畑作物について地上部の葉鞘から根端までの酸素の通気組織、さらには根部の酸素漏洩の有無について比較・検討するとともに、根表面の ROL バリアの機能についても評価を行い、畑作物湿害検定方法を開発する。また、発芽への湛水の影響についても幅広い作物種で調査し、湛水下での発芽率改善に効果的な生理的特徴を検討する。これらより、有用畑作物の耐湿機能を強化する。対象作物は、イネ、ダイズ、トウモロコシ、ソバ、ソルガムおよびアマランサスとした。

3) 湛水と乾燥の複合的な水ストレスに適応する作物の機能評価 (鹿児島大学・坂上, 佐賀大学・鄭, 琉球大学・ホサイン)

植物の冠水耐性に必要な遺伝子が乾燥・干ばつ耐性とトレードオフの関係を持つことが、モデル植物シロイヌナズナにおける分子生物学的手法を用いて明らかにされた (Ayan ら 2019)。植物の陸上適応進化は湿潤な環境で始まったと考えられているが、これを成功させるには洪水 (冠水) 耐性に加えて、湿潤地域では土壌が酸性である場合が多いため、酸性土壌耐性を持つことが必要である。本研究は、様々な植物遺伝資源を用いて、乾燥から湛水までの幅広い水分条件における適応性の評価を通して、それぞれの作物種の成育モデルを作成する。現在までに、イネとトウモロコシを材料に、成育モデル開発を試みた。これによると、イネは土壌水飽和条件で生育が増し、乾燥条件で生育が低下していくこと、トウモロコシはその反対となっていることを実験的に明らかにした。本研究では、様々な土壌水分条件において水ストレスを回避する作物の生育メカニズムを明らかにするとともに、有望作物・品種を選抜した。

2 研究の成果

① 冠水耐性品種育成のための材料の作出 (藤田大輔/佐賀大学)

近年に東南アジアの主力品種に *SUB1* 遺伝子を導入して、地域に適応した冠水耐性イネが育成されている。本研究は、現在までに試みられたことのない、日本型品種コシヒカリに *SUB1* 遺伝子を導入して、日本型冠水耐性品種を育成することが目的である。材料として、日本型水稻品種コシヒカリと冠水耐性遺伝子 *SUB1* を保有する FR13A を用いた。8月上旬に、これらの品種をポットへ播種し、ガラス温室内において植物体を育成した。コシヒカリと FR13A を交雑する為には、開花期を調整する必要があり、コシヒカリを1週間おきに3度播種した。また、花粉不稔を回避するために、10月以降は25℃以上に調節された室内で植物体を管理した。種子親であるコシヒカリは、10月上旬から開花しており、10月中旬に開花した3個体を交配に用いた。花粉親である FR13A は、10月12日以降に開花が始まり、開花した植物体を交配に用いた。交配を行う前日に、コシヒカリにおいて、開花前の穎花の葯を取り除き、グライシン紙で穂を密封した。10月12日と16日に、葯を除去したコシヒカリの穂に、FR13A の花粉を振りかけた。各植物体から、7個、30個、62個 (計99個) の F₁ 種子が得られた。また、戻し交雑を行う為に、これらの F₁ 種子を

播種した。

作出した F₁ 種子が自殖種子ではないことを確認する為に、播種 2 週間後の植物体から DNA を抽出した。DNA 抽出は、Potassium Acetate 法により両親と F₁ 個体から、それぞれ DNA を抽出した。DNA マーカーを用いて *SUB1* の領域の遺伝子型を確認するために、両親間 (FR13A とコシヒカリ間) で違いのある DNA マーカーを探索した。Septiningusih ら (2009) が、DNA マーカー選抜により東南アジアの品種へ *SUB1* を導入した時に用いられた 7 個の DNA マーカー、*SUB1* 近傍の領域に座乗している 15 個の SSR マーカー (McCouch et al. 2002)、コシヒカリとアジア原産のイネ品種間の欠失領域を検出する 6 個の Indel マーカー (Yonemaru et al. 2015) を用いて多型検出を行った。PCR に関しては、Gotaq (プロメガ社) を用いて、35 サイクルで 95°C30 秒、55°C30 秒、72°C30 秒の条件で行った。

結果として、Septiningusih ら (2009) のマーカー選抜で用いられた 7 個のマーカーに関して、両親間で多型は見られなかった。また、*SUB1* 近傍の領域に座乗している 15 個の SSR マーカーに関しては、4 個

のマーカーにおいてコシヒカリと FR13A 間で多型が見られた (図 1)。さらに、6 個の Indel マーカーにおいては、コシヒカリと FR13A 間で多型は見られなかった。両親間で多型が見られたマーカーを用いて、F₁ 個体の遺伝子型を調査したところ、*SUB1* より長腕側に座乗する RM23899 と RM23900、RM23907、RM5526 において、ヘテロ型のバンドが検出され、作出した F₁ 植物体は自殖種子でないことが確認できた。今後、これらの F₁ 個体をコシヒカリで戻し交雑すると共に、*SUB1* の短腕側に多型があるマーカーを設定する必要がある。

引用文献：

Septiningusih et al. (2009) *Annals of Botany* 103: 151-160.

McCouch et al. (2002) *DNA Research* 9: 199-207.

Yonemaru et al. (2015) *Breeding Science* 65: 249-256.

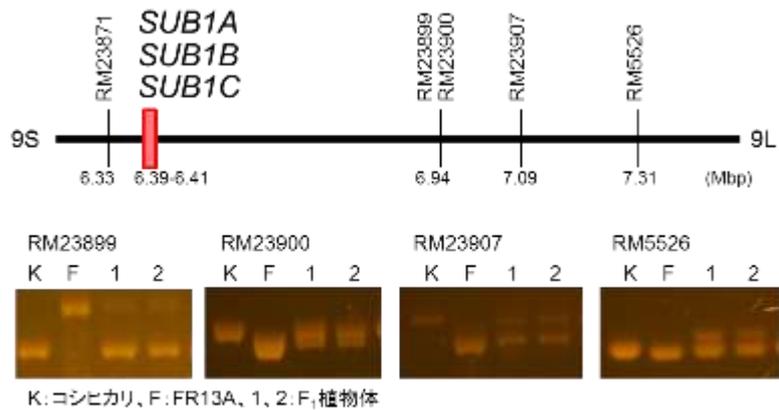


図 1. 冠水耐性遺伝子 *SUB1* の近傍に座上する DNA マーカー。赤色の部分は日本晴ゲノム上での *SUB1* の位置を示す。

② アマランサス数品種に対する温度と灌水条件の影響 (アマザド・ホサイン/琉球大学)

アマランサス、その属は 60 品種以上から構成されるが、その高い栄養価から今後重要な食用作物になると考えられている (Sreelathakumary and Peter 1993, Rastogi and Shukla 2013)。抗酸化物質、タンパク質、ビタミン類、ミネラルに富み、また慢性疾患を予防し、免疫系を活性化させ、再生や成長を促し、炎症や血圧を抑えるほか、骨を強くする効果もあるとされ、それらにより健康食品であると考えられている。アマランサスは、葉や茎を野菜として、また穀粉や穀粒として消費することが出来る (図 2)。アマランサスは主にアフリカ、バングラデシュ、カリブ地域、中国、ギリシャ、インド、ネパールや南

太平洋の島嶼地域で広く栽培されている (Prakash and Pal, 1991; Begum, 2000; Stalknecht and Schaeffer, 1993; Svirskis, 2003). 熱帯および亜熱帯地域の様々な栽培環境下で育ち、生育も早いことが特徴である。他方で、その生育、収量および品質は栽培時の環境要因により変化が見られる。そこで本実験では幾つかのアマランサス品種の生育および収量に対する温度、乾燥および灌水条件が及ぼす影響を評価することを目的とした。



図2 アマランサスの葉、茎及び子実

1) 種子発芽における気温の影響

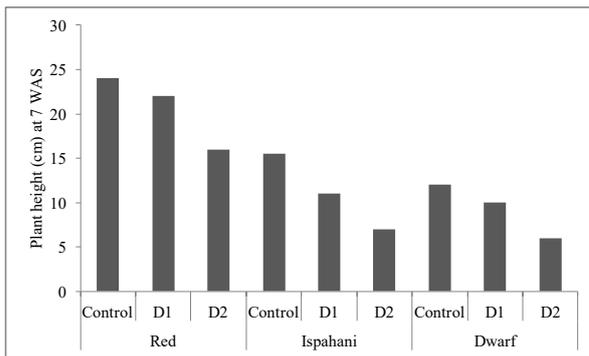
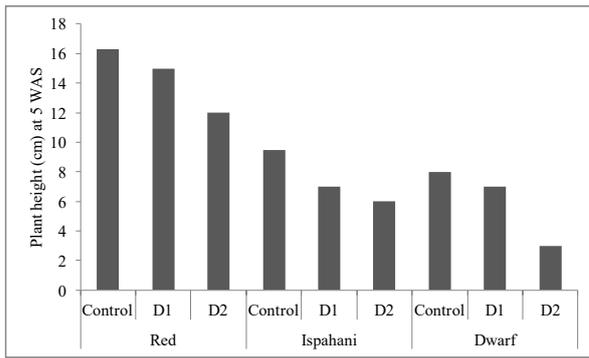
アマランサス3品種(Lalshak R. M., leaf amaranth; Sada dhata, stem amaranth; Bhutan dhata classic) の種子発芽について、摂氏 20°C, 25°Cおよび 30°Cそれぞれの温度条件下で評価を行った。その結果、温度条件 20°C~30°Cですべてのアマランサス品種の発芽が確認されたが、25°C~30°Cで発芽が 20°Cに比較して2日早く生じた (図3)。



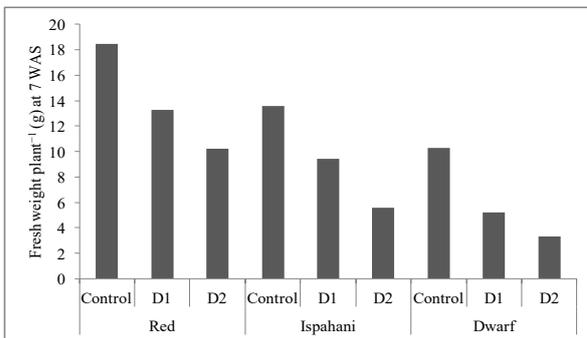
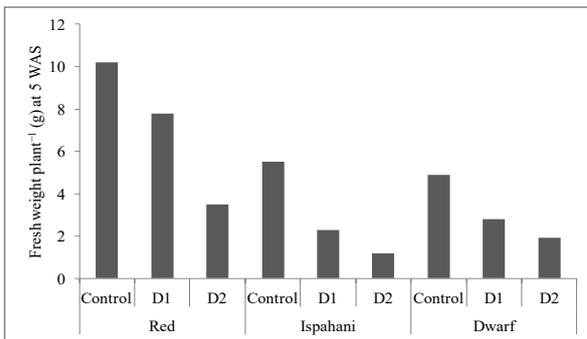
図3 温度が種子発芽に及ぼす影響

2) アマランサス数品種の乾燥ストレスへの応答)

Red, Ispahani and Dwarf bhutan の3品種のアマランサスの種子を現地種苗会社より取り寄せ、7リットルのポットを砂土壌で、化学肥料適量を加えて充填した。12月27日に播種し、生育3週間の苗を2つの乾燥レベル下(D1: 圃場容水量40%, D2: 圃場容水量20%) および Control: 対照区に置いた。その後草丈、新鮮重量および乾燥重量を播種後5週及び7週目に計測した。すべての品種の成長パラメータと収量は乾燥ストレスの増加に伴って減少したが、Red品種は他の品種に比べて影響が少なかった(図4~図8)。



☒ 4. Plant height of amaranth varieties as affected by drought stress



☒ 5. Fresh weight of amaranth varieties as affected by drought stress

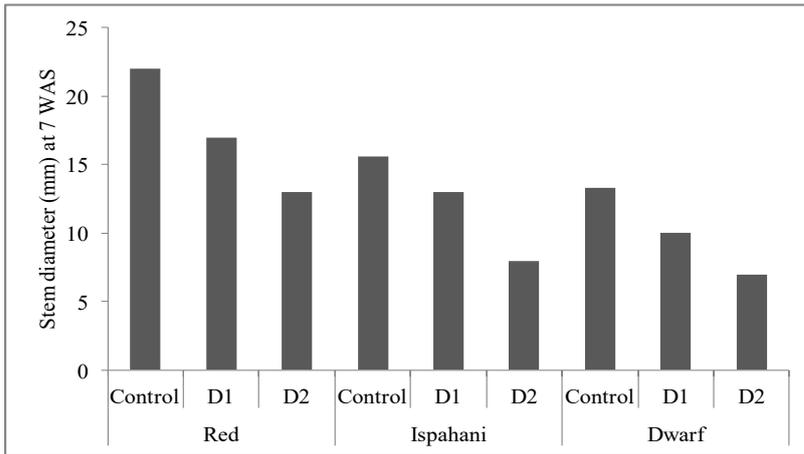


Fig. 6. Stem diameter of amaranth varieties as affected by drought stress

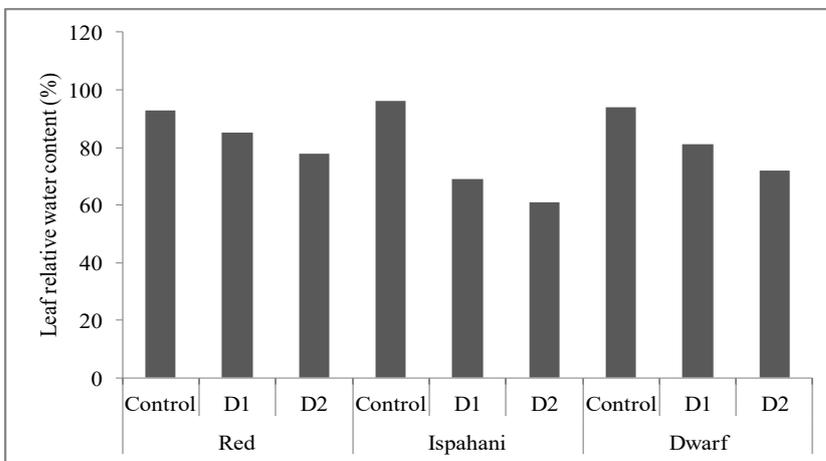


Fig. 7. Leaf relative water content of amaranth varieties as affected by drought stress



Fig. 8. Phenotypic variation of amaranth varieties as affected by drought stress at 7 WAS. (Amaranth variety from Left: Red, Middle: Ispahani, Right: Dwarf bhutan)

3) アマランサス 3 品種の湛水（水耕）栽培の条件解明

洪水は、アマランサスが重要な野菜であるバングラデシュ、インドとネパールの一部の地域で大きな問題となっている。そこで、本研究は、洪水条件下での栽培の可能性について、アマランサスへの湛水の影響を評価するために行った。

茎アマランサス 2 品種 (Sada dhata, Bhutan dhata classic) および葉アマランサス 1 品種 (Lalshak R M) を水耕栽培し、ハウス内の気温を摂氏 23℃、最適な栄養および照光条件を維持した。全ての品種が水耕栽培で成長したが、Sada dhata と Bhutan dhata classic の 2 品種の生育は Lalshak R M に比べ、生育速度が遅い結果を示した (図 9)。Lalshak, Sada dhata と Bhutan dhata classic の 3 品種の平均草丈は播種後 30 日の時点でそれぞれ 12.6 cm, 5.5 cm および 6.5 cm であった。すべてのアマランサスの生育品種間差異はあるものの、湛水条件による大きな生育衰退などの影響を受けないことが明らかになった。本実験によりアマランサスは水耕による栽培が可能であることが示唆された。



図 9. Plant height of different amaranth varieties under

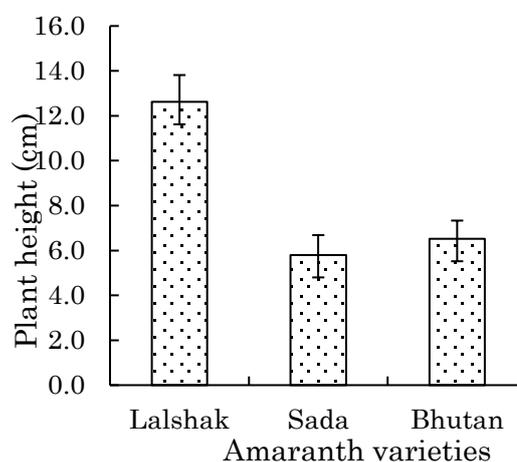


図 10. Growth of different amaranth varieties under

以上の、一連の実験から、アマランサスは乾燥ストレスに対する生育応答は品種間で異なることが分かった。また、供試した品種は、最も乾燥条件の厳しい圃場容水量 20% で生育が劣った。一方で、アマランサスの種子は 20℃~30℃ で発芽したが、25℃ および 30℃ の発芽が 20℃ に比べて早かった。また、湛水した水耕条件においては、品種にかかわらず十分な生育が得られることを把握した。

③ 過湿土壌におけるマメ科作物の出芽反応 (鄭紹輝/佐賀大学)

マメ科作物は畑地栽培に適しており、過湿土壌には弱い。日本でも水田転作作物にはダイズが推奨されているが、水田土壌の過湿環境は問題になっている。また、マメ科作物は根粒菌との共生による窒素固定作用があるため、土壌保全や緑肥作物として熱帯地域においても需要は高いが、熱帯地域でも雨季には洪水、乾季には乾燥害が発生し利用拡大の障害になっている。従って土壌水分の制御、あるいは土壌水分に対する広域適応

性の持つ作物の選抜・作出が重要である。本研究は、洪水や乾燥環境に適するマメ科作物の選抜に資する目的で、数種のマメ科作物の出芽期、及び初期生育における土壤水分に対する反応を明らかにした。

1) 土壤水分がマメ科作物 8 種の出芽率に及ぼす影響

過乾燥から過湿状態になるような様々な含水率に調整した畑土壤にダイズなど 8 種のマメ科作物を播種し、最終出芽率を調査した (表 1)。その結果、乾燥条件下では、土壤含水率がダイズでは 8.7%以下、ラッカセイでは 7.6%以下で出芽が著しく抑制され、両作物が乾燥土壤の影響を受けやすいことが示された。それに対して、過湿環境では、土壤含水率が 21.2%以上になると他の作物では 60%以上の出芽率を示しているのに対し、ダイズでは全く出芽できなくなっている。この結果から、ダイズはマメ科作物の中で土壤水分、特に過湿域の土壤水分の影響を受けやすいことが明らかになった。通常、多くのマメ科作物では、成育期間中に長期間の乾燥、あるいは過度の降雨や短期間の洪水 (数日間) にも耐えられるが、これは植物が出芽後自立成長機構を発達させ、様々な環境に適応したためであると考えられ、出芽過程は植物の環境適応性が弱く土壤水分により敏感であることが示唆された。

表 1 各種土壤水分環境下におけるマメ科作物の出芽率 (%)

作物	土壤含水率 (%)									
	6.7	7.6	8.7	9.3	11.4	12.8	15.2	17	21.2	24.8
ダイズ	0	70	70	100	100	100	100	90	0	0
ラッカセイ	10	30	100	100	100	100	100	100	100	0
インゲンマメ	60	100	100	100	100	100	100	100	80	10
フジマメ	10	90	90	100	100	90	100	100	90	50
ササゲ	80	100	90	100	100	90	100	100	90	0
リョクトウ	30	100	100	100	100	100	100	100	100	50
ケツルアズキ	40	100	100	80	100	100	100	100	60	50
モスビーン	30	90	100	80	100	90	100	80	60	0

2) ダイズの出芽における湛水抵抗性の品種間差異

前述のように、出芽期のダイズは、他のマメ科作物に比較して土壤水分に対する適応範囲が狭い。一般的に、種子の活力は出芽の良否に強い影響があるといわれている。活力の低い種子からは発芽時の吸水過程に多くの溶質が溶出することから、種子の浸漬液の電気伝導度を種子活力の指標に利用されている。そこで、浸漬による種子からの溶出物の種類や量を調べるため、ダイズを含むマメ科作物 8 種 (66 品種) を供試し、20°C 24 時間浸水処理によって種子から溶出したアミノ酸および糖を高速液体クロマトグラフで測定した (図 11)。まずアミノ酸については、被検された 17 種遊離アミノ酸のうち、ダイズ種子からは最も多く (16 種類) の溶出がみられ、その量も最も多く、次いでインゲンマメ、リョクトウなどの順に高かった。また、糖については、被検されたグルコース、フルクトース及びスクロースの総量でみるとダイズでは圧倒的に多く、次いでインゲンマメ、ササゲなどで、リョクトウやケツルアズキからはほとんど検出されなかった。そこで、何故ダイズ種子からの溶出が多いのか、ダイズのどの特質が溶出に関わっているのかを調査するため、種子の大きさや色の異なる 20 品種を用い、正常

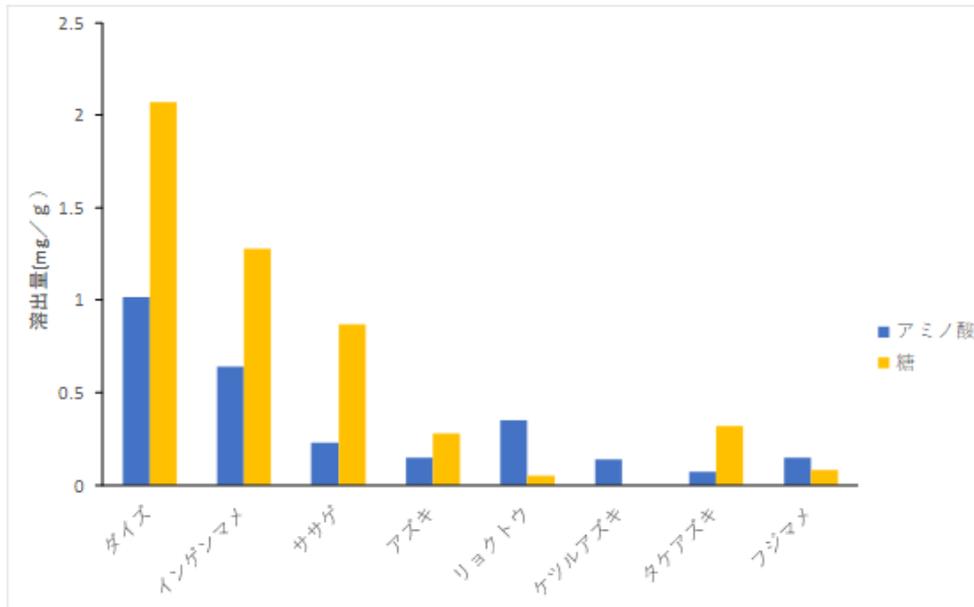


図 11 浸水によるマメ科作物種子からアミノ酸と糖類の溶出量 (鄭・川端 2000)

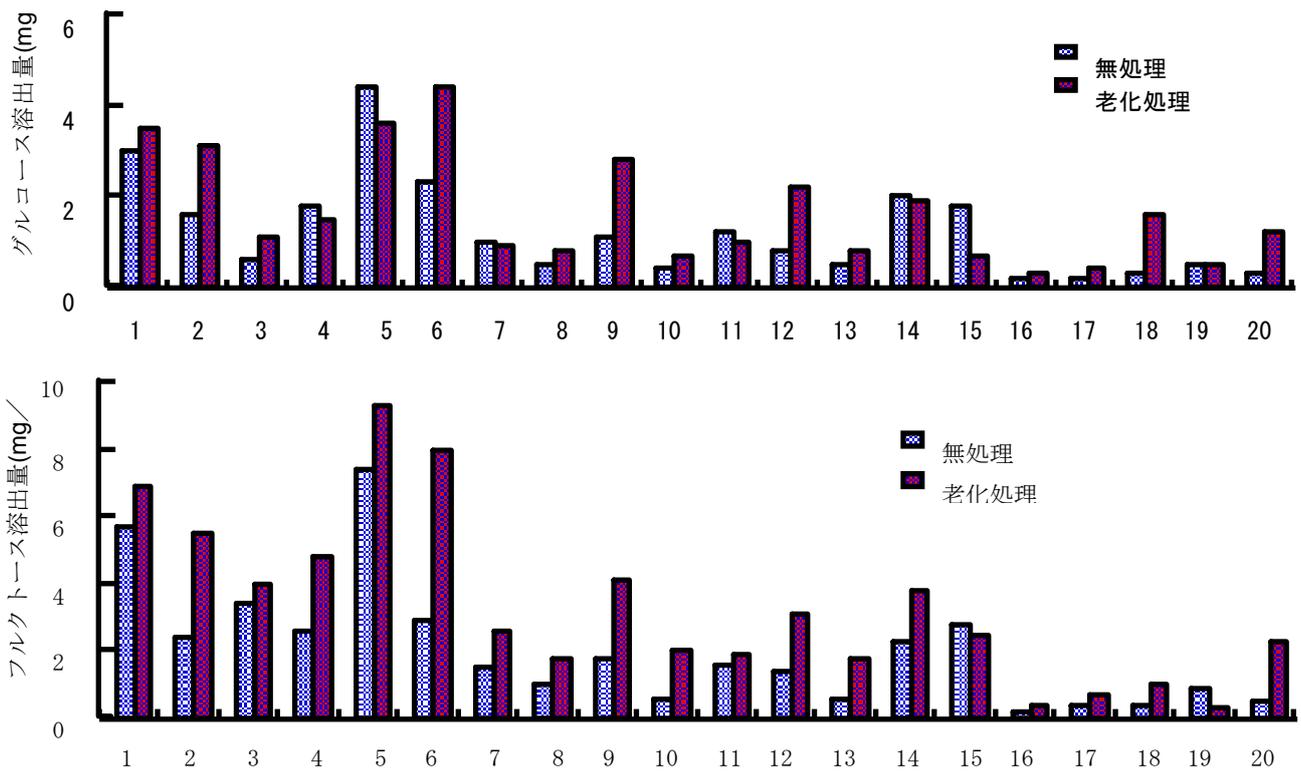


図 12 浸水によるダイズ 20 品種の種子からの糖溶出量.

黄色品種 1:アサノク、2:アアカリ、3:アマリ、4:黄色秋大豆、5:シロア、6:タホレ、7:納豆小粒、8:ヒョウガ、9:フユカ
 緑色品種 10:畦大豆、11:極大豆、12:コサマメ
 黒色品種 13:黒千石、14:碁石豆、15:浸豆、16:もやし豆
 茶色品種 17:茶千石 9 号、18:茶大豆、19:秣食豆、20:美濃緑茶大豆

種子と加速老化処理によって活力が低下した種子の浸漬による糖の溶出、及び過湿土壌における出芽率との関係を解析した。種子からのグルコース及びフルクトース溶出量は、品種間で大きく異なり、またほとんどの品種において活力が低下した老化種子で溶出量が増加していた（図 12）。また、溶出量は種子が大きく種皮が薄い品種ほど多かった。さらに種皮色との関係でみると、黄色品種＞黒色品種＞緑色品種＞茶色品種の順に溶出量が多い傾向がみられた。ところで、ダイズの吸水は黄色品種より黒や茶色の品種のほうが緩やかであり、また黒色品種の発芽における湛水抵抗性が強い報告があるが、本実験でも黄色品種よりも、黒色や茶色品種などで溶出量が少なく、活力低下や過湿土壌での出芽率も黄色品種より高いことが観察された。以上の結果から、ダイズの過湿土壌における出芽障害が起きやすい一因としては、過湿条件下におけるダイズ種子からは多くの栄養質が溶出し、病原菌の繁殖を招き、結果的に侵食されやすいためではないかと考えられる。この影響は活力が低下した種子ほど大きかった。なお、ダイズでも黄色品種で特に過湿条件に弱いのは、種皮の構造が弱く急激な吸水の過程で子葉組織が崩壊しやすいためであると考えられる。従って種子活力が落ちない貯蔵方法が不良土壌環境下の安定した発芽・苗たちの確保には重要である。

参考文献

- 鄭紹輝・川畑美保 2000. 浸水によるマメ科作物種子からのアミノ酸および糖の溶出. 日本作物学会紀事 69 : 380-384.
- 鄭紹輝・綿部隆太 2000. 浸水によるダイズ種子からの糖溶出と出芽の関係. 日本作物学会紀事 69 : 520-524.

3) 湛水と乾燥の複合的な水ストレスに適応する作物の機能評価

植物の冠水耐性に必要な遺伝子が乾燥・干ばつ耐性とトレードオフの関係を持つことが、モデル植物シロイヌナズナにおける分子生物学的手法を用いて明らかにされた (Ayan ら 2019)。植物の陸上適応進化は湿潤な環境で始まったと考えられているが、これを成功させるには洪水（冠水）耐性に加えて、湿潤地域では土壌が酸性である場合が多いため、酸性土壌耐性を持つことが必要である。本研究は、様々な植物遺伝資源を用いて、乾燥から湛水までの幅広い水分条件における適応性の評価を通して、それぞれの作物種の成育モデルを作成ために、ここではマメ科作物のダイズ、ササゲ、インゲンマメ、アズキを用い、土壌水分が過湿から過乾燥の6段階に設定し、各種作物の成長反応を調査した。現在、実験を進行中で、今後データ収集をすすめる。

④ 連続的に異なる土壌水分条件におけるトウガラシ (*Capsicum chinense*) の水ストレス応答 (坂上潤一/鹿児島大学)

トウガラシは食用および換金作物としてアジア地域において貴重な作物の一つである。近年、地球温暖化の影響を受け、東南アジア地域では降雨パターンの年次変動また局所的なスコールの頻度が増大している。その結果、一部地域のトウガラシ栽培において干ばつおよび洪水の被害が顕著である。一方で、トウガラシにおける水ストレス応答の生理的機構は十分に解明されていない。本研究では、乾燥から湛水までの連続的に異なる土壌水分条件下でトウガラシを生育させ、その水ストレス応答およびその生理的機構について評価・解析した。

鹿児島大学附属農場温室内の傾斜コンテナ (図 13) で実験 A および実験 B を行った。材料にはハバネロ (*Capsicum chinense*) を供試した。2019 年 4 月 12 日に育苗トレーに播種および育苗した後、6 月 19 日 (実験 A) および 7 月 16 日 (実験 B) に砂を充填した圃場へ栽植密度 10 cm × 15 cm で定植した。その 7 日後に湛水し、圃場底辺からの水位を 2 cm (実験 A) および 20 cm (実験 B) に維持した。処理区として圃場内を 3 領域 (低含水域 D, 中間含水域 W, 高含水域 F), さらに各領域を 3 分割した各区 6 個体の全 9 区 (DL, DM, DH, WL, WM, WH, FL, FM, FH) を設けた。土壌の体積含水率 (VWC), 温室内の気温および相対湿度を測定した (図 14)。気孔コンダクタンスを実験 A では処理前, 処理後 9 日 (9 DAT) および 12 DAT, 実験 B では処理前, 7 DAT および 12

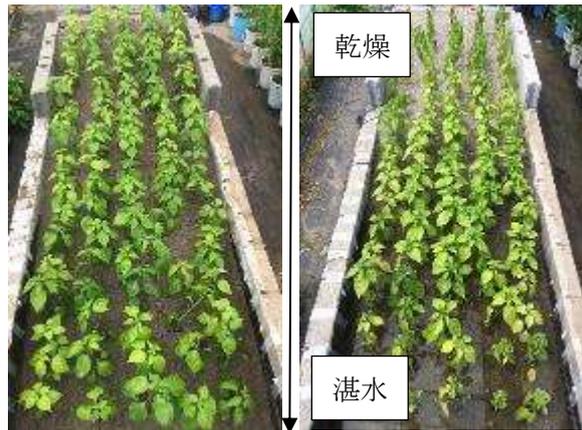


図 13 処理前 (左) と処理後 9 日目 (右) のトウガラシの生育

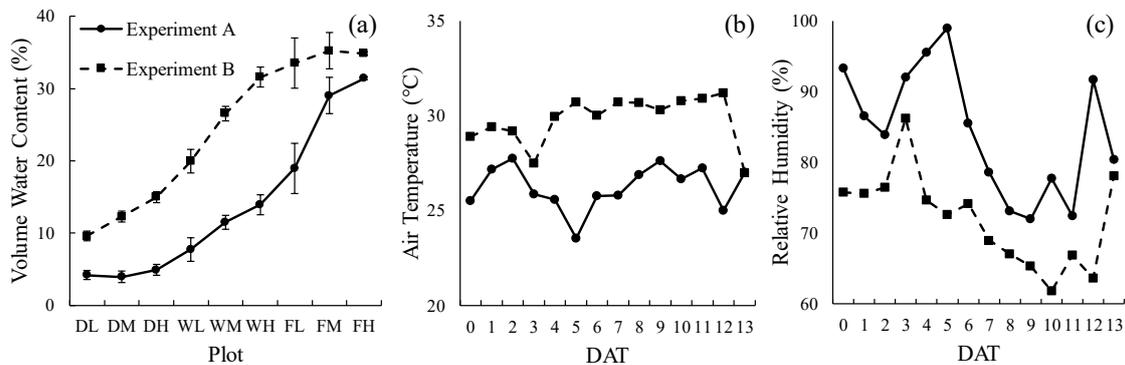


図 14. Volume water content (a), air temperature (b) and relative humidity (c) in Ex. A and Ex. B. Alphabets at the plot indicate water levels: DL (dry-low), DM (dry-middle), DH (dry-high), WL (wet-low), WM (wet-middle), WH (wet-high), FL (flood-low), FM (flood-middle), FH (flood-high), respectively. Error bars indicate standard deviations.

DAT に測定した。また、これら測定の前 1 日後に葉を採取し、葉内水ポテンシャル (LWP) および葉面積 (LA) を測定した後、個体地上部を 3 日間 80°C で乾燥させ、部位別の乾物重

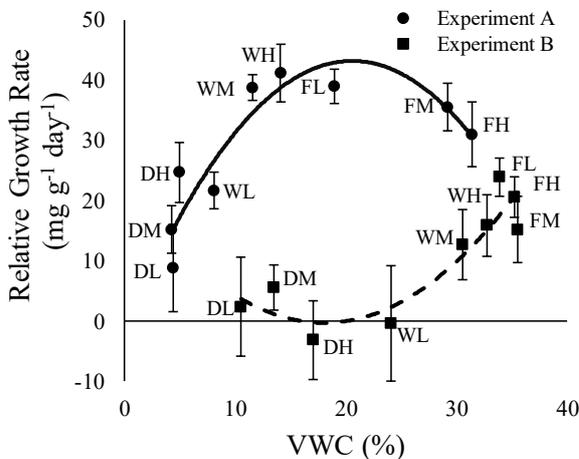


図 15. Relationship between VWC and RGR from 0DAT to 13DAT in Ex. A and Ex. B. Error bars indicate standard errors.

を測定した。くわえて、葉のクロロフィル含量を分析した。

傾斜圃場における VWC は、実験 A で 4.2% ~ 31.4%, 実験 B で 9.6% ~ 34.9% の範囲で連続的な値を示した。実験 A より実験 B で温室内の大気の高気度は高く、相対湿度は低かった。また、全処理区について実験 A より実験 B で落葉重が大きく、葉面積が小さかった (図 15)。これらのことから、実験 A より実験 B で相対成長速度 (RGR) が遅かったと考えた。両実験において RGR は F 域より D 域で遅かった。F 域の LWP は、両実験において一度減少したが、13DAT に

再び増加もしくは維持し、両実験においてW域とF域の間に有意差が認められなかった。一方、D域におけるLWPは顕著に減少した。LWPと気孔コンダクタンスの間にF域およびD域において有意な正の相関が認められ、その傾きはD域よりF域で大きかった(図16)。したがって、F域においてLWPを増加もしくは維持することで気孔コンダクタンスをより高く保つ方向に作用したことが示唆された。以上より、トウガラシは乾燥および過湿の水ストレス下において落葉重を増加させ、葉面積を減少させる応答を示した。さらに、過湿域においてLWPの減少を抑制する応答がみられ、この応答は気孔コンダクタンスおよびRGRの維持に寄与したと示唆された。

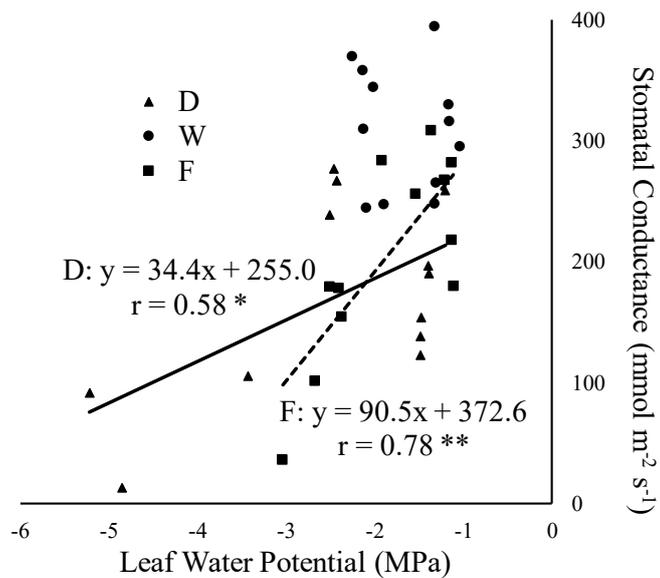


図 16 Relationships between leaf water potential and stomatal conductance at 13DAT. Both experiments A and B data included. Asterisks indicate a significant correlation coefficient defined by Pearson. *P < 0.05, **P < 0.01.

⑤ 異なる土壌ストレス条件が稲の根の伸長角度に及ぼす影響 (坂上潤一/鹿児島大学)

天水によるイネ栽培では、不安定で予測不可能な降雨や頻繁に発生する干ばつなどにより収量が不安定であるため、耐乾性を示すイネ品種の導入が重要である。そのため、アフリカでは安定的なコメ生産栽培体系の確立を目的として、種間交雑品種群NERICAが育種された。その中でもNERICA1とNERICA4については、中程度の土壌乾燥条件下で、異なる乾燥回避性を示すことが報告されている。乾燥回避性は根の伸長と伸長角度が深く関わる性質であり、これまでの研究で、根の伸長について、NERICA1は浅層における側根の発達、NERICA4は深層に向けた根の伸長が促進されるという異なる可塑性を示すことにより特定の土壌環境下で乾燥回避性に差があることが報告されている。しかし、根伸長角度について可塑性の詳細な評価行われてこなかった。そのため本研究では、可塑性による乾燥回避性の評価には根長と伸長角度の両方から評価が必要であると考え、NERICA1とNERICA4を用い、天水条件下における生育初期段階の乾燥に対する根伸長角度と角度別の根の伸長の可塑性と乾燥回避性の関係を明らかにすることを目的に行った。本研究ではポット試



図 17 バスケット法による根の伸長

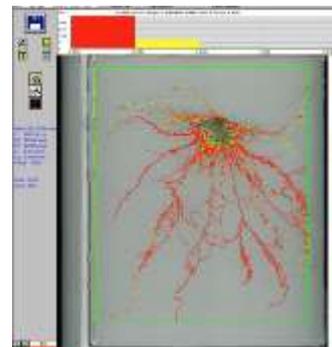


図 18 WinRhizoによる根系の解析

験と圃場試験を行い、比較、検討を行った。ポット試験ではNERICA1とNERICA4および耐乾性品種LAC23を供試品種とし、湿潤区と乾燥区を設けて35日間栽培した。根の評価として、バスケット法(図17)に従って30°ごとに線を引いたバスケットを埋設し、平均根伸長角度、角度別の側根長と節根長および乾物重を測定した(図18)。地上部では葉面積、葉身および茎乾物重を測定した。圃場試験ではアフリカのウガンダで実施し、NERICA1およびNERICA4を供試した。湿潤区と乾燥区を設け、60日間栽培した。根の評価として出液速度、バスケット法による平均根伸長角度、ライナー採土器を用いて採取した根の乾物重を測定した。地上部は葉面積と葉身及び茎の乾物重を測定した。平均根伸長角度から、土壤乾燥に対して根伸長角度の可塑性には品種間差異があることが示唆され、LAC23に比較してNERICA1およびNERICA4の可塑性は弱いと考えられた(表2)。根の伸長角度別の節根当たりの総根長から、NERICA4は乾燥に対して鉛直方向のみならず土壤表層への根長の増加が明らかになり、これまでに報告されている深層方向に加え、表層への根の伸長を促進する可塑性があると考えられた(表3)。圃場試験では、乾燥区においても硬盤層は発生しておらず、NERICA4がNERICA1に比較して乾物生産を維持したことから、深層方向に伸びた根が吸水し、乾燥ストレスを軽

表2 ポット試験播種後35日目における総節根数当たりの節根数および平均根伸長角度。

品種	処理	総節根数あたりの節根数(%)			平均根伸長角度(°)
		30°	60°	90°	
LAC23	W	33.2	36.0	30.8	44.3
	D	13.6	39.2	47.2	55.1
	t-test	**	ns	**	**
NERICA1	W	31.6	39.8	28.7	44.1
	D	36.2	40.1	23.7	41.2
	t-test	ns	ns	ns	ns
NERICA4	W	29.7	35.7	34.6	46.4
	D	24.9	37.6	37.5	48.8
	t-test	ns	ns	ns	ns

表3 ポット試験播種後35日目における節根当たりの総根長。

品種	処理	節根当たりの総根長(cm/本)		
		30°	60°	90°
LAC23	W	145.3	175.3	260.8
	D	100.7	179.7	299.7
	t-test	*	ns	ns
NERICA1	W	100.6	103.9	172.9
	D	157.2	185.9	165.0
	t-test	ns	*	ns
NERICA4	W	92.6	145.9	104.4
	D	197.7	157.8	165.4
	t-test	**	ns	*

表4 ポット試験の地上部および根の乾物重、全乾物重、葉面積、RGR

品種	処理	乾物重(g/株)							葉面積(cm ²)		RGR(g/g/day)	
		葉身		葉鞘		根・35DAS			全乾物重			
		15日目	35日目	15日目	35日目	30°	60°	90°	35日目	15日目		35日目
LAC23	W		2.07		1.85	0.10	0.12	0.16		39.8	535.9	0.0474
	D	0.13	2.03	0.060	1.78	0.02	0.16	0.23	4.21		506.9	0.0473
	t-test		ns		ns	*	ns	ns	ns		ns	
NERICA1	W		1.52		1.18	0.07	0.11	0.14	3.02	43.8	374.6	0.0466
	D	0.14	1.13	0.062	0.90	0.08	0.16	0.09	2.37		235.7	0.0454
	t-test		ns		ns	ns	ns	ns	ns		ns	
NERICA4	W		1.88		1.30	0.07	0.18	0.17	3.60	47.4	454.1	0.0468
	D	0.14	1.65	0.067	1.30	0.12	0.19	0.19	3.45		404.9	0.0465
	t-test		ns		ns	*	ns	ns	ns		ns	

*は5%水準の有意差を、**は1%水準の有意差を示す。また、nsは有意差が認められなかったことを示す。

減したと考えられた (表 4)。以上から、アフリカの有望品種である NERICA1 と NERICA2 は土壤水分ストレスに対する反応が異なり、より土壤が乾燥した条件においては、根を鉛直方向に深層まで伸長させる NERICA4 がより効果的であることが明らかになった。このことは、アフリカの土壤乾燥が問題となる天水地域で NERICA4 が圧倒的に広域で栽培されていることを裏付けている。一方で、硬盤層が発達し地表水を得やすい土壤条件においては、NERICA1 の特徴が有利であると考察した。

⑥ 異なる土壤水分条件における作物の根の分配と伸長 (坂上潤一/鹿児島大学)

根系の分布形態は主に根長とその伸長方向によって決まるが、土壤水分条件が変化する天水環境下においては根の土壤圏への分配が、水ストレス障害を回避する重要なファクターとなりうる。近年は、地球温暖化が原因の集中豪雨などの影響によって畑地においても耕地湛水することが報告されている。一方で、乾燥による被害も局地的な問題として未解決のままである。水生植物のイネは、湛水条件いわゆる根系が嫌気状態でも健全に生育する特徴を示す一方で、陸稲では耐乾性の特徴も持ち合わせている。本研究は、イネ、ミレット、トウモロコシおよびソルガムについて、乾燥から湛水までの異なる土壤水分条件で生育を比較検討して、それぞれの土壤水分に対する根の分配を比較検討した。



処理区として、土壤表面から 5 cm 湛水した湛水区、まったく灌水しない乾燥区および土壤表面が乾燥しない程度に灌水する中間区を設けた。実験は根箱 (40 cm x 40 cm x 5

図 19 湛水区の作物の生育

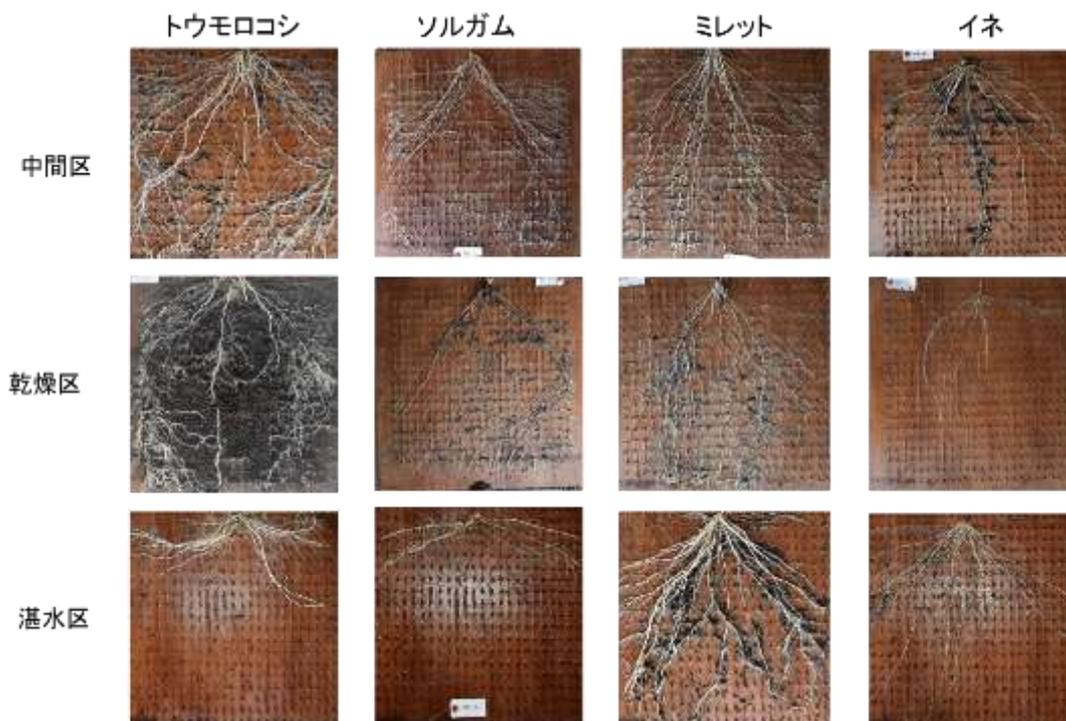


図 20 異なる土壤水分条件下での根系の発達

cm) を用いた (図 19)。処理期間は 3 週間とした。処理期間中に、地上部の生育調査を行うとともに、根を採取して、地下部における根の配分について、根長、根重、根表面積、根体

積を WinRhizo による画像解析によって計算した。

供試した作物種によって、土壌水分に対する反応が異なっていることが明らかになった。まず、トウモロコシおよびミレットは乾燥区、中間区で、層別間の根長の分配は大きな違いが認められなかったが、湛水区では根長の 90%以上が地下 10 cmの層に分布していた（図 20・図 21）。一方で、ミレットは、処理区において、10~20 cmおよび 20 cm~30 cmの層で、根長は同様の分布を示したが、30~40 cmの層では乾燥区、中間区、湛水区の順で根長の割合が減少した。反対に 0~10 cmでは同様の順で根長の割合が増加した。イネについては、処理区間で、層別の根長分配は大きな変化はなかったが、湛水区の 0~10 cm層でより根長が増加する傾向を示した。次に、地上部乾物重と地下部根長、根表面積、根体積をそれぞれ標準化し、それぞれの関係性を示した（表 5）。その結果、0~30 cmの 3層で乾燥区のみにおいて、地上部乾物重と地下部根長、根表面積、根体積は、正の相関関係が示された。以上から、供試した作物間で地下部層の根系の特徴は異なっており、これは土壌水分に対する根の伸長の反応性が作物間で異なるからである。特に、トウモロコシとソルガムは、湛水区において深層（30~40 cm）にほとんど根を伸長させないことが明らかになった。また、ミレットの異なる土壌水分（乾燥・湛水）での表層（0~10 cm）と深層での根伸長の反応性が異なることが明らかになった。さらに、地上部乾物重においては、乾燥区において 0~30 cmに分布する、根長、根表面積、根体積が関係していることがわかった。一方で、中間区、湛水区においては、その関係性が認められなかった。今後データの詳細な分析を進める

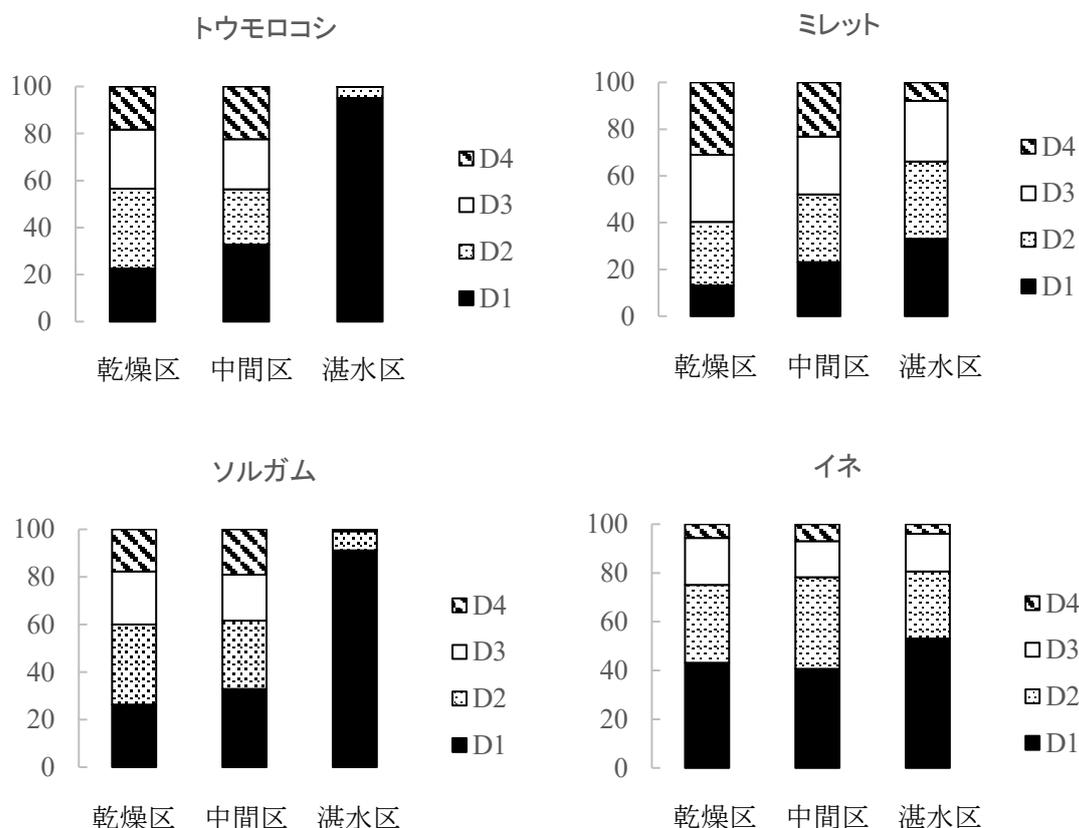


図 21 処理後の根長の分布。D1, D2, D3, D4 はそれぞれ地表面からの 0~10 cm、10 cm~20 cm、20 cm~30 cm、30 cm~40 cmの深さの層。

表 5 標準化した地上部乾物重と根長、根表面積および根体積の関係

層	根長			根表面積			根体積		
	中間区	乾燥区	湛水区	中間区	乾燥区	湛水区	中間区	乾燥区	湛水区
D1	0.1	0.6 **	0.6	0.2	0.6 **	0.3	0	0.6 **	0.3
D2	0.2	0.6 **	0.3	0	0.7 **	0.4	0.1	0.6 **	0.4
D3	0.1	0.7 **	0.1	0.2	0.8 **	0.2	0.1	0.8 **	0.3
D4	0	0.1	0.1	0.2	0.3	0.1	0.2	0	0.1

D1, D2, D3, D4 はそれぞれ地表面からの 0～10 cm, 10 cm～20 cm, 20 cm～30 cm, 30 cm～40 cm の深さの層.

学会, 論文等への成果発表

1) 学会発表

[国際学会]

・ Keisuke Hatanaka, Shin Yabuta, Minoru Yoshino, Jun-Ichi Sakagami. Root system development of rice in different soil moisture condition in Uganda field. 2019 年韓国作物学会秋季大会講演会・国際フォーラム/Annual meeting of Korean Crop Science Society and International Forum in 2019 (2019 年 9 月 29 日～10 月 2 日, 金堤市, 韓国).

・ Keita Goto, Shin Yabuta, and Junichi Sakagami. Development of chili pepper growth model under different soil water conditions. 2019 年韓国作物学会秋季大会講演会・国際フォーラム/Annual meeting of Korean Crop Science Society and International Forum in 2019 (2019 年 9 月 29 日～10 月 2 日, 金堤市, 韓国).

[国内学会]

・ 後藤啓太・藪田伸・坂上潤一. 連続的に異なる土壌水分条件におけるトウガラシ (*Capsicum chinense*) の水ストレス応答. 第 127 回日本熱帯農業学会講演会 (2020 年 3 月 17 日～18 日, 府中市)

・ 畠中京介, 藪田伸, 坂上潤一. 天水条件下におけるイネ種間雑種 NERICA の根の可塑性に関する研究. 第 127 回日本熱帯農業学会講演会 (2020 年 3 月 17 日～18 日, 府中市)

2) 原著論文

・ J-I. Sakagami, Y Iwata, A H I Nurrahma, E Siaga, A Junaedi, S Yabuta. Plant adaptations to anaerobic stress caused by flooding. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 418:1-7, 2020. doi:10.1088/1755-1315/418/1/012080

3 研究の総括と今後の課題・展望

・ 研究の総括

近年の降雨量の変動は, 温暖化の影響が強く, 温度上昇により益々降雨量の変動さらにはパターンの変化を助長する可能性がある. 本研究はこれらの農業生産上の問題を解決するために, 有望作物の不良環境に対する潜在的適応性の評価, 畑作物の湛水耐性向上, 水ストレス抵抗性系統の作出の研究を通して, 九州・沖縄地域において今後起こりうる可能性の高い降雨量の変動に適応する作物生産体系の確立に貢献することを目的とした. 対象とした

作物は、イネ、ダイズ、トウモロコシ、ミレット、ソルガム、アマランサス、トウガラシである。研究内容は、冠水耐性品種育成のための材料の作出、畑地作物の湛水抵抗性評価と選抜および湛水と乾燥の複合的な水ストレスに適応する作物の機能評価の 3 つの中課題で構成され、それぞれにおいて、①冠水耐性品種育成のための材料の作出、②アマランサス数品種に対する温度と灌水条件の影響、③過湿土壌におけるマメ科作物の出芽反応、④連続的に異なる土壌水分条件におけるトウガラシ (*Capsicum chinense*) の水ストレス応答、⑤異なる土壌ストレス条件が稲の根の伸長角度に及ぼす影響および⑥異なる土壌水分条件における作物の根の分配と伸長、の小課題に取り組んだ。その成果の概要は以下の通りである。

- ① 冠水耐性品種育成のための材料の作出：供試した親品種のコシヒカリと FR13A 間で多型は見られなかったが、両親間で多型が見られたマーカーを用いて、F1 個体の遺伝子型を調査したところ、*SUB1* より長腕側に座乗する RM23899 と RM23900, RM23907, RM5526 において、ヘテロ型のバンドが検出され、作出した F1 植物体は自殖種子でないことを確認した。
- ② アマランサス数品種に対する温度と灌水条件の影響：強い乾燥ストレスは供試した 3 品種すべての生育及び収量に負の影響を及ぼしたが、Red 品種は他の品種に比べて影響が少ないことがわかった。また、水耕栽培からアマランサスは湛水条件に適応可能である可能性が示唆された。
- ③ 過湿土壌におけるマメ科作物の出芽反応：ダイズの過湿土壌における出芽障害が起きやすい一因としては、過湿条件下におけるダイズ種子からは多くの栄養質が溶出し、病原菌の繁殖を招き、結果的に侵食されやすいためではないかと考えられた。また、ダイズでも黄色品種で特に過湿条件に弱いのは、種皮の構造が弱く急激な吸水の過程で子葉組織が崩壊しやすいためであると考えられた。
- ④ 連続的に異なる土壌水分条件におけるトウガラシ (*Capsicum chinense*) の水ストレス応答：トウガラシは乾燥および過湿の水ストレス下において落葉重を増加させ、葉面積を減少させる応答を示した。さらに、過湿土壌域において葉身の水ポテンシャルの減少を抑制する応答がみられ、この応答は気孔コンダクタンスおよび RGR の維持に寄与していると考えた。
- ⑤ 異なる土壌ストレス条件が稲の根の伸長角度に及ぼす影響：有望品種 NERICA1 と NERICA2 は土壌水分ストレスに対する反応が異なり、より土壌が乾燥した条件においては、根を鉛直方向に深層まで伸長させる NERICA4 がより効果的であることが明らかになった。一方で、硬盤層が発達し地表水を得やすい土壌条件においては、NERICA1 の特徴が有利であると考察した。
- ⑥ 異なる土壌水分条件における作物の根の分配と伸長：作物間で地下部層の根系の特徴は異なっており、これは土壌水分に対する根の伸長の反応性が作物間で異なるからである。トウモロコシとソルガムは、湛水区において深層にほとんど根を伸長させないことが明らかになった。また、ミレットの異なる土壌水分（乾燥・湛水）での表層と深層での根伸長の反応性が異なることが明らかになった。

・次年度に向けての課題・計画・展望等

本年度で収集したデータをさらに詳しく検討するとともに、次年度においても研究を継続して必要なデータを追加する。また、これら成果については、積極的に国内外の学会等で公

表するとともに、重要な成果については学会誌などへの投稿を試みる。

・ 科研費等の競争的外部資金への応募計画

次年度においては、本成果を基盤とした研究計画を科研費（基盤B）に応募して、さらなる研究の継続性を担保する。

4 支援金の執行内訳

(単位：円)

費 目	金額	内訳・算出根拠
備 品 費	1,200	●ダイキン園芸用冷暖房空調機 1台
消 耗 品 費	1,244	●土壌水分測定メーター ●試薬一式 ●その他 ●実験資材: 花咲き物語, スタンダードシャーレ, ●試薬一式: PipetPAL-PLUS, 酢酸エチル GR 15kg ●測定・分析機器一式: ホットスターラー, COSMOSIL 5C18-AR-II Packed Column, COSMOSIL 5SL-II Packed Column, DISMIC デイスポフィルター
人件費・謝金	0	
旅 費	170	●キックオフミーティング 佐賀-鹿児島 (2人 x @23千円) 沖縄-鹿児島 (1人 x @46千円) ●学会参加 佐賀-鳥取 (1人 x @78千円)
そ の 他 (印刷製本・通信運搬・役務費等)	86	●論文掲載料, インクジェットなど
計	2,700	

5 資料等

なし。