

は　じ　め　に

社会における科学の役割は、過去 20 年間に大きく変化した。温暖化ガスの排出抑制、環境と調和する農業の振興などの例を挙げるまでもなく、種々の政策を立案することにおいて科学的知見は不可欠な要素となった。他方、科学技術は急速な革新と発展を遂げ、生活の隅々にまで浸透するようになるとともに、人々は技術のリスクや「未知のリスク」も含めた科学の不確実性に気づくようになった。こうした背景のもとに、ICSU (International Council for Science)に代表される科学者コミュニティーは、科学技術と社会との関係を問い合わせ直す作業に取り組んだ (Science and Society : Rights and Responsibilities - a Strategic Review, ICSU, 2005)。

科学には、知識を深める科学（科学のための科学）と、社会が直面する課題を理解し解決策を提示する科学（政策のための科学）の 2 つがある。20 世紀の科学は前者の科学において大きな発展を見たが、21 世紀の今日、前者のみならず後者の科学の発展が望まれる状況にあり、科学者の社会に対する責務としてこの両者に寄与することが強く求められている。英国サセックス大学のギボンズらが提示する「知識の創造」概念は 2 つの「モード」を要素に持つ。すなわち、ディシイプリンを基礎とした少数の権威的拠点が蛸壺的専門主義に基づいて知識生産を行うと同時に、当該ディシイプリンの知識体系に如何に寄与したかという観点からその生産物が同僚によって評価される「モード 1」と、多数のディシイプリンからの分野横断的な参画と社会的に分散した複数の拠点で行われる知識生産で、評価基準も如何に問題解決に寄与したかで測られる「モード 2」である（藤垣裕子編「科学技術社会論の技法」、東京大学出版会、2005 年）。知識の創造においては、「モード 2」のみで知識生産のすべてが可能となるわけではなく、「モード 1」の存在が必要不可欠である。農業生産の対象となる生物の生育環境の保全および改善に関する技術の向上に寄与することを目的とする私たちの研究所においても、科学者の社会に対する責務は他者と異なるものではなく、ギボンズらのいう「モード 1」と「モード 2」の営みは必須である。

周知のように私たちの研究所は、第一期中期計画において、1) 農業生態系の持つ自然循環機能に基づいた食料と環境の安全性の確保、2) 地球規模での環境変化と農業生態系との相互作用の解明、3) 生態学・環境科学研究に関わる基礎的・基盤的研究、に関する研究を重点に掲げている。平成 17 年度は第一期中期計画の最終年度に当たるが、これまで毎年度、本書同様、成果情報を刊行してきた。したがって、本書は、過去 5 年間の研究成果をまとめのではなく、平成 17 年度に実施した研究の中から主要な成果を、学術の成果と技術の成果に分けて選定し、まとめたものである。本書の刊行が、「離見の見」をわれわれ自身に与える機会として、また読者諸賢からの忌憚のない批判を得る機会となり、それらを通じて研究の更なる深化が図られるとともに、本書が皆様にとって有意義な情報になることを願っている。

平成 18 年 3 月

独立行政法人 農業環境技術研究所

理事長 佐藤 洋平

利 用 に 当 た つ て

1. 本誌は、平成17年度主要成果検討会で選ばれた主要な研究成果の中から農業環境研究推進会議において選定された成果情報を編集・刊行したものである。
2. 編成は、独立行政法人農業環境技術研究所中期計画の「 - 1 試験及び研究並びに調査」の課題編成の順としている。
3. 要約中のアンダーラインはキーワードである。
4. 分類は次の略称を記入している。
行政：行政からのニーズに対応した調査研究成果
行政施策の計画、立案、遂行の参考になる成果
国際機関等で参考となる成果
技術：他の試験研究機関（法人、民間を含む）の試験研究上有効となる成果
普及現場で活用される成果
学術：新しい技術、基礎的知見あるいは研究手法等に関する学術上の価値が高い成果
5. 独立行政法人農業環境技術研究所では、上記分類の「行政」及び「技術」を、独立行政法人評価委員会における「普及に移しうる成果」として扱う。
6. 本文は、[背景・ねらい]、[成果の内容・特徴]、[成果の活用面・留意点]、[具体的データ]、[その他]と分けて記入している。
7. [その他]の研究課題名で、括弧内は年度計画小課題を示す。
8. 参考資料として、指定試験から提出のあった成果情報を掲載した。
9. 本成果集の内容に関する問い合わせの窓口は、独立行政法人農業環境技術研究所研究企画科とする。
10. 本成果集に掲載された成果情報の無断複製・転載を禁ずる。

目 次

A. 農業生態系の持つ自然循環機能に基づいた食料と環境の安全性確保	1
1. 中規模河川における懸濁性水質サンプルの採取位置による濃度差は小さい	2
2. 水田土壤から分離した2,4-D分解菌の分解遺伝子はメガプラスミドに存在する	4
3. キトビオースが誘導する放線菌の効率よいキチン分解機構	6
4. クロロ及びメチルチオトリアジン系農薬を完全分解できる複合微生物系	8
5. 珪藻の除草剤感受性を群集レベルの生育速度により簡易に検定する	10
6. 雑草群落に混生する野生化したアブラナ属植物の種間交雑種子の検出	12
7. キュウリ苗立枯病を抑える組換え微生物の土壤微生物相への影響	14
8. 導入天敵昆虫等の新たな生態系影響評価方法と導入判断基準	16
9. 外来昆虫ブタクサハムシの飛翔による分布拡大能力	18
10. 浮遊シダ植物のサンショウモはスルホニルウレア系除草剤に対して感受性が高い	20
11. 土壤中におけるL-DOPAの植物生育阻害活性の消長	22
12. 固体NMRによるアロフェン・イモゴライトの検出とAI配位数解析	24
13. 13量体AIは根圈環境中で不安定なため生育阻害要因となりえない	26
14. 高感度・高精度・迅速なシアナミド定量法	28
15. アオコの増殖抑制植物を検定する「リーフディスク法」の開発	30
16. 生物多様性保全のための景観・植生調査解析システム	32
B. 地球規模での環境変化と農業生態系との相互作用の解明	35
17. 大気CO ₂ 濃度の上昇と群落微気象要因を考慮したイネの穗温推定モデル	36
18. 農耕地からの亜酸化窒素の排出係数は現在のIPCCデフォルト値よりも低い	38
19. 積雪地域におけるスギ花粉の飛散開始日の推定	40
20. 食料生産・消費拡大がもたらす東・東南アジアの水質変動の予測	42
21. 野生動物の生息域拡大のしにくさを評価する手法の開発	44
C. 生態学・環境科学研究に係る基礎的・基盤的研究	47
22. XANESを用いた水田土壤中のヨウ素の非破壊形態分析とその溶脱機構	48
23. 反射光の偏光特性を利用した作物個体群情報の計測方法	50
24. 昆虫文献目録「三橋ノート」の画像データベースの作成と公開	52
25. 130年にわたって採集された微生物さく葉標本の目録の作成と公開	54
26. 植物生息細菌の定性・定量的解析とデータベースの構築	56
参考資料(指定試験から提出のあった成果情報)	59
27. LCA手法による水稻不耕起移植栽培の温室効果ガス排出削減効果の評価	60
28. ケイ酸石灰施用による代かき濁水由来の水質汚濁の低減	62
29. 冬期掛け流し灌漑を行う場合の水田の硝酸性窒素除去能の推定式	64

A . 農業生態系の持つ自然循環機能に基づいた 食料と環境の安全性の確保

[成果情報名] 中規模河川における懸濁性水質サンプルの採取位置による濃度差は小さい

[要約] 農業地域を流れる中規模河川において懸濁性水質サンプルを採水する場合, 懸濁物質濃度は採水の深さによるばらつきはほとんどなく, 河川横断方向においても, 採水位置による濃度のばらつきは平均濃度値±15%の範囲にある。

[担当研究単位] 化学環境部 栄養塩研究グループ 水動態ユニット

[分類] 技術

[背景・ねらい]

大雨や豪雨による侵食や洪水, 水田代かき時などに生じる農耕地から水系への懸濁物質 (SS) の流出は, 短期間に集中して生じる。このようなイベント時に集中的に発生する SS は流水中に不均一に分布している可能性が高く, 通常の定期的モニタリング時の採取手法 (断面における複数位置の採水とその混合) は, イベント時では適用できない可能性がある。そこで, 農業地域を流れる中規模河川を対象に, 降雨直後の濁水流出時の水文観測や断面分割採水による SS 濃度値を基に, 濃度変動や平均値等の SS 濃度特性を明らかにする。

[成果内容・特徴]

1. つくば市を流れる桜川の上流から二本木橋, 樺穂橋 (図 1), 城世新橋, 君島橋の 4 断面で観測を行った。川幅は 9.0m ~ 25.2m であり, 水深は平時の 0.4m から増水時の 5m まで変化する (表 1)。
2. 河川断面の鉛直方向 (水深を最大 3 分割) の採水において, 表層と下層の SS 濃度の関係はほぼ 1 : 1 であり, 採水位置に関係なくほぼ均一に分布している (図 2)。
3. 同じ採水試料における TN 及び TP 濃度の表層と下層の関係は, SS 濃度の場合よりもややばらつきが大きい (図 2)。
4. 川幅を横断方向に 2m ~ 4m に分割して採水し, 岸からの距離と SS 濃度値の関係を示した (図 3)。この濁水の採水イベント毎の平均濃度値とそれに対する変動係数を求める, 変動係数の平均は 10% で, ほとんどは 15% 以下である (図 4)。横断面の任意の位置で採取した場合でも SS 濃度値は, 平均濃度値の ±15% 以内であると推定される。
5. これらのことから, 中規模河川における降雨後等のイベント時の SS 濃度は, 通常の採水方法, すなわち, 複数位置から採水し混合した試料の測定値で代表させることができる。

[成果の活用面・留意点]

1. 中規模河川における, 採水装置の設置場所の選定に活用できる。
2. ここでいう中規模河川とは, 県が管理する 1 級河川で流域面積は 100 km² 以上を想定している。
3. 桜川における流速の測定範囲は, 0.25 ~ 2.0 m/s であり, 上記成果の適用できる流速は 0.25 m/s 以上である。

[具体的データ]

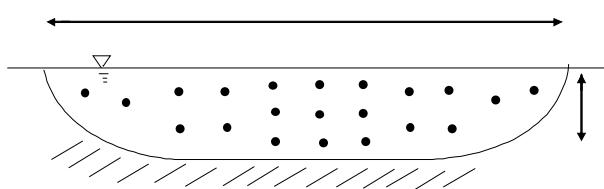


表1 採水地点の河川幅と水深

	二本木橋	樺穂橋	塙世新橋	君島橋
河川幅m	9.0	14.7	23.0	25.2
水深m	1.0 ~ 5.3	0.6 ~ 4.7	0.4 ~ 2.8	0.6 ~ 2.3

図1 中規模河川断面図と採水地点(樺穂橋)

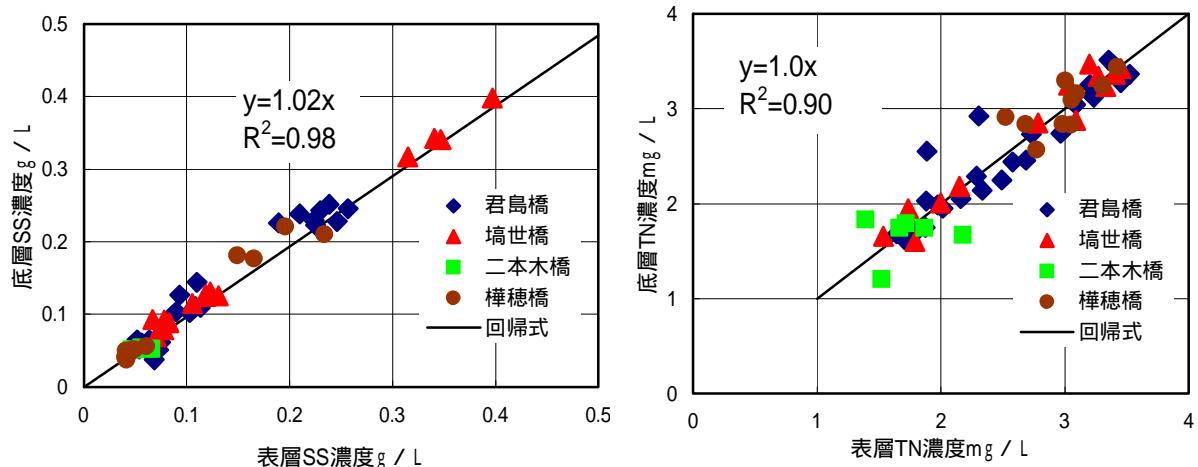


図2 表層採水試料と底層採水試料のSS濃度, TN濃度の関係

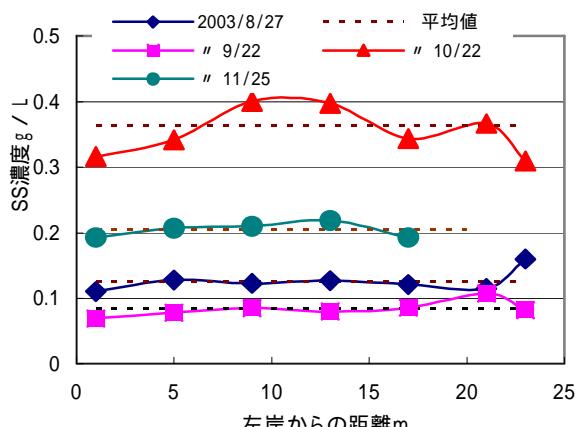


図3 塙世新橋における横断採水位置とSS濃度の関係

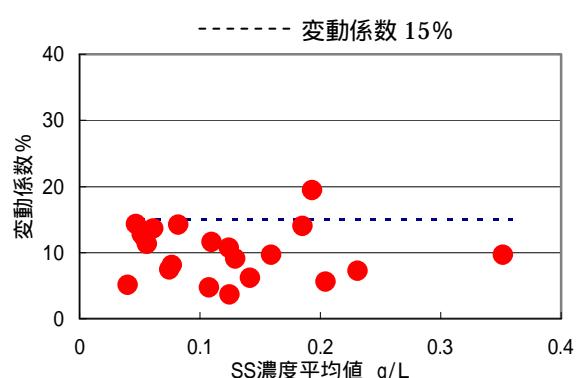


図4 横断採水におけるSS濃度の変動係数とSS濃度平均値の関係

[その他]

研究課題：中規模流域における環境負荷物質のモニタリング手法の開発

予算区分：運営交付金，交付金プロ「自然循環」

研究期間：2005年度(2003~2005年度)

研究担当者：坂西研二，佐々木由佳(山形大)，神田健一，中島泰弘

発表論文等：

- 1) 坂西研二ら, H17年度農土学会大会講演要旨集, 346-347(2005)

[成果情報名] 水田土壤から分離した 2,4-D 分解菌の分解遺伝子はメガプラスミドに存在する

[要約] 国内 8 地点の水田土壤から分離された 2,4-D 分解菌の分解遺伝子の塩基配列は，3 グループに分けられる。分離された 14 株のうち 8 株は，塩基配列が同じ分解遺伝子を大きさが同一のメガプラスミド上に持つ。

[担当研究単位] 化学環境部 有機化学物質研究グループ 土壤微生物利用ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

環境修復を目的とした組換え微生物が作出されているが，将来，こうした組換え微生物を野外で利用するためには，環境への影響を考慮し，組換え遺伝子の動態を予測してその拡散を防ぐ必要がある。しかしながら，野外環境における分解遺伝子の多様性および遺伝子の動態については十分に解明されていないのが現状である。そこで，環境修復を目的とした組換え微生物のモデルとして，世界各国で古くから使用されている除草剤，2,4-D (2,4-ジクロロフェノキシ酢酸) の分解菌に着目し，それが有する 2,4-D 分解遺伝子を指標に，分解菌の日本における分布と多様性，およびそれぞれの分解遺伝子を運ぶプラスミドの有無について明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 2,4-D は日本では主に水田において使用されている。国内各地 8 地点の水田土壤から，2,4-D を唯一の炭素源とする液体培地を用いた集積培養により，計 14 株の 2,4-D 分解菌を単離した(図 1)。
2. これまでに世界各地で調べられた 2,4-D 分解にかかる遺伝子群は塩基配列に基づいて 3 グループに分類され，得られた 14 株の分解菌の分解遺伝子配列は，この 3 グループに分けられた(図 1)。
3. 上記 8 地点の土壤のうち，6 地点の土壤から分離した 8 株 (図 1 ◀印) の 2,4-D 分解遺伝子の部分塩基配列は互いに 100% 相同で，アメリカで分離された分解菌 *Burkholderia cepacia* RASC 株の配列と 98% 以上の相同性を示す。これは，RASC 株の分解遺伝子配列と高い相同性を示す遺伝子配列を有する菌株が、広い地域に存在することを示した初めての報告である。
4. 上記 8 株は 16SrRNA 遺伝子の部分塩基配列に基づくと，*Cupriavidus* 属菌(1 株)と *Burkholderia* 属菌 (7 株) に分類される。また，7 株の *Burkholderia* 属菌は同属ながら 16SrRNA の配列に相違が認められ，異なる種類の菌である。これらの菌が同じ 2,4-D 分解遺伝子配列を保有することは，この 2,4-D 分解遺伝子配列が異なる種類の細菌の間を伝播していることを示唆する。
5. 14 株の分解菌の 2,4-D 分解遺伝子は，全てメガプラスミド (大型プラスミド) 上に存在する。本研究で改良を加えたプラスミドの電気泳動法 (Eckhardt 法) は，通常のアルカリ SDS 抽出法では検出が困難なメガプラスミドの研究に有効である。特に 8 株が保有する RASC 株に類似の分解遺伝子は，大きさが同一の約 600 kb のメガプラスミド上にある (図 2)。このことは，遺伝子の伝播に，既存の方法では検出されにくかった大型のプラスミドが関与することを示唆している。

[成果の活用面・留意点]

1. 本成果で得られた 2,4-D 分解遺伝子を有するメガプラスミドの構造や機能を解析することにより，土壤微生物における遺伝子の伝播を予測し，遺伝子組換え微生物の安全使用技術を開発するための基礎的知見が得られる。
2. 2,4-D 分解遺伝子の存在するプラスミドの伝達能は明らかになっていない。

[具体的データ]

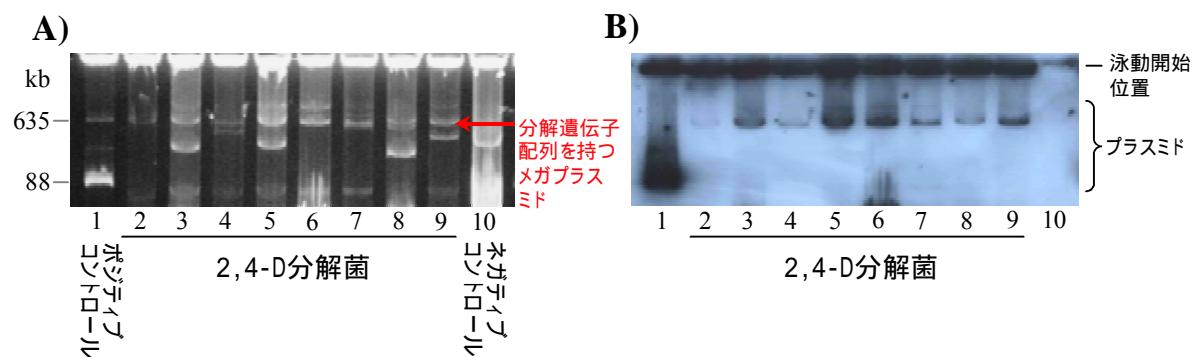
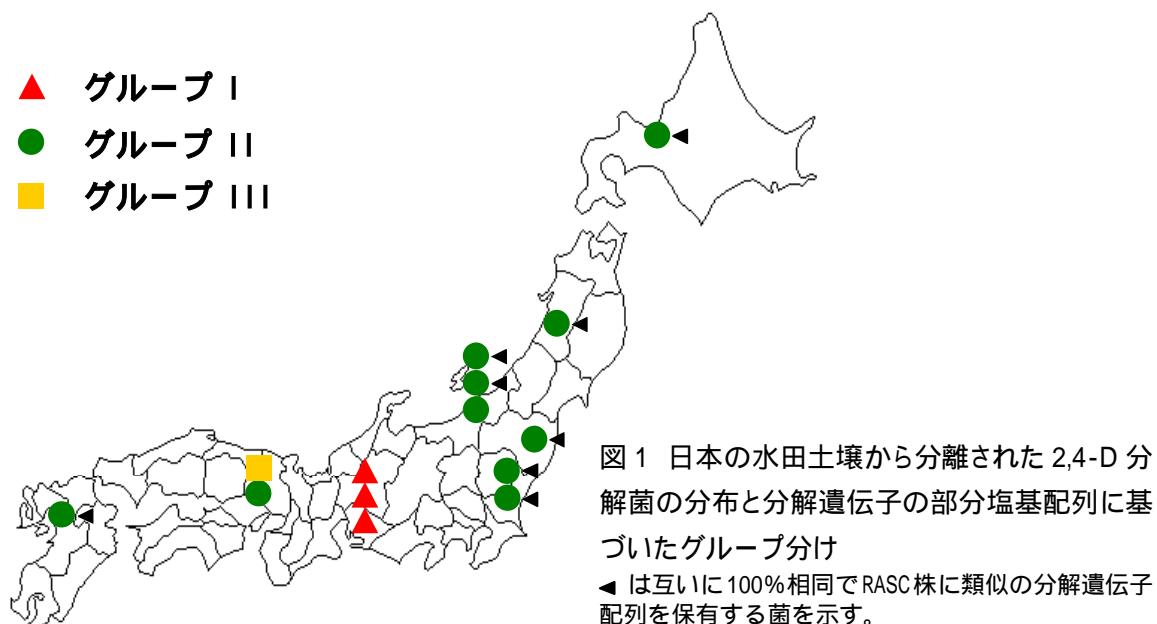


図2 RASC株に類似の分解遺伝子を持つ2,4-D分解菌のプラスミドの電気泳動像(A)および分解遺伝子の部分配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション(B)
 ポジティブコントロールとしては、2,4-D分解遺伝子を有する *Ralstonia eutropha* JMP134 株のDNAを、また、ネガティブコントロールとしては分解遺伝子を持たない *Agrobacterium rhizogenes* MAFF301724 株のDNAを用いた。プラスミドの電気泳動は、既存のプラスミド泳動法 (Eckhardt法: 菌体を直接、電気泳動用寒天に入れてDNAを泳動する方法)の溶菌条件および泳動条件を改良して実施した。

[その他]

研究課題名：クロロ安息香酸分解菌等の分解遺伝子群の構造と機能の解析技術の開発
 (クロロ安息香酸分解菌等の分解能解析技術の解析)

予算区分：運営費交付金

研究期間：2005年度(2001~2005年度)

研究担当者：酒井順子、小川直人、藤井毅、長谷部亮(現農水省)

[成果情報名] キトビオースが誘導する放線菌の効率よいキチン分解機構

[要約] 放線菌は、通常少量のキチナーゼを絶えず生産分泌しているが、このキチナーゼが糸状菌細胞壁などのキチン質を分解して作り出すキトビオースは、キトビオース取込蛋白質遺伝子とタイプの異なる複数のキチナーゼ遺伝子の発現を誘導し、効率良いキチン質の分解・取り込みが起こる。

[担当研究単位] 化学環境部 有機化学物質研究グループ 土壤微生物利用ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

昆虫、甲殻類の外殻や作物病原糸状菌の細胞壁の構成成分であるキチンは、セルロースに次いで多量に自然界に存在するバイオマスで、キチンを分解する酵素キチナーゼは、自然界の物質循環で大きな役割を演じると共に、農業的には作物病害抑制因子としてその利用が期待されている。キチナーゼを生産する主要な土壤細菌である放線菌のキチン分解機構を明らかにすることにより、放線菌キチナーゼの有効利用技術の開発に貢献できる。そこで、放線菌のキチン分解産物の取り込みに関与する誘導性の糖取込蛋白質群を明らかにすると共に、放線菌のキチン分解・取り込み機構を提示する。

[成果の内容・特徴]

1. 放線菌培養液にキトビオースを添加すると、細胞膜画分にキトビオース結合蛋白質が誘導される(図 1-1)。
2. DNA マイクロアレイを用いて放線菌細胞で発現している遺伝子の発現量を調べると、キトビオース添加時に比べて添加 2 時間後の発現量が増加している糖輸送系の糖結合蛋白質遺伝子 (*cbiE4*) が検出される(図 1-2)。
3. *cbiE4* 遺伝子の下流には、糖輸送系を形成する 2 つの膜蛋白質のホモログ遺伝子 (*cbiF4* と *cbiG4*) とキトビオースを分解する酵素のホモログ遺伝子 (*aglE*) が順向きに存在している(図 2, 右下部)。
4. 放線菌キチナーゼ遺伝子群は、キトビオースによってその発現が誘導されるが、この誘導にはキチナーゼ遺伝子のプロモーター領域に存在する 12bp のダイレクトリピート配列(図 2 中の最下部、プロモーター領域にある黄色矢印)が関与している。*cbiE4* 遺伝子のプロモーター領域にもこの 12bp のダイレクトリピート配列が 3 個存在しており、キチナーゼ遺伝子群と同じ発現制御を受ける。
5. 放線菌はグルコース等の食べやすい基質があるときは、キチン分解系の誘導を起こさない。この制御は転写レベルで起こり、グルコースをリン酸化するグルコースキナーゼ蛋白質が関与している(図 2, 左側)。
6. 以上のことから、放線菌におけるキチン分解は、図 2 のように進行すると考えられる。すなわち、放線菌が通常少量分泌生産しているキチナーゼがキチンと遭遇して分解が起こると(青矢印)、キトビオースが生成する。このキトビオースがセンサーによって認識されると、その情報が細胞内に伝わり(赤点線)、グルコースが存在しない場合には複数の機能が異なるキチナーゼ遺伝子群と(赤太矢印)キトビオース輸送系蛋白質遺伝子群 (*cbiE4*, *cbiF4*, *cbiG4*, *aglE*) の発現が誘導される。生成されたキチナーゼのキチン分解産物であるキトビオースが細胞内に取り込まれて、効率的なキチンの分解・取り込みが進行する(黒太矢印)。

[成果の活用面・留意点]

微生物の一次代謝系に関わる遺伝子の発現制御機構を解明するためのモデル系となる。

[具体的データ]

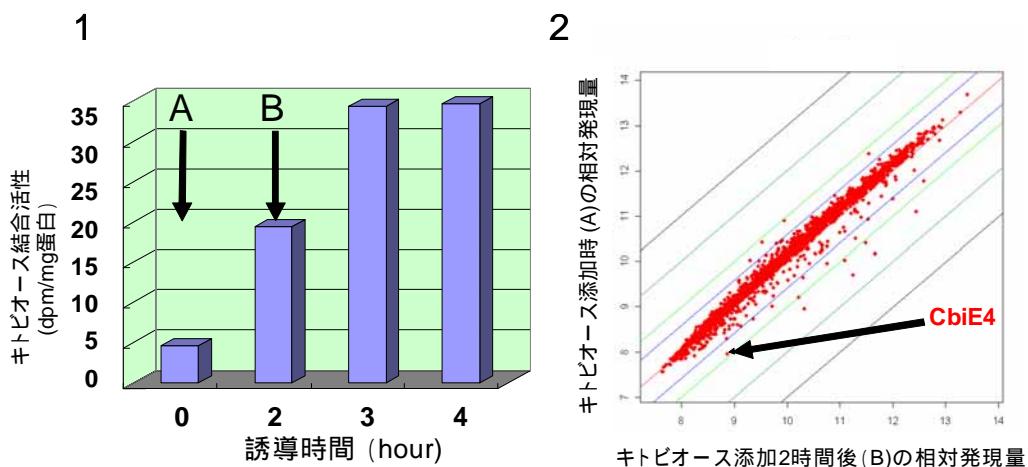


図1 キトビオース添加によって膜画分に誘導されるキトビオース結合蛋白質
放線菌培養液にキトビオースを添加すると細胞膜画分にキトビオース結合蛋白質が誘導されてくる(1)。キトビオース添加時(A)と添加後2時間後(B)の細胞からRNAを抽出し,DNAマイクロアレイで解析すると、キトビオース添加後に相対発現量が増加した遺伝子群の中に糖膜輸送系の糖結合蛋白質(CbiE4)遺伝子の発現誘導が検出される(2)。

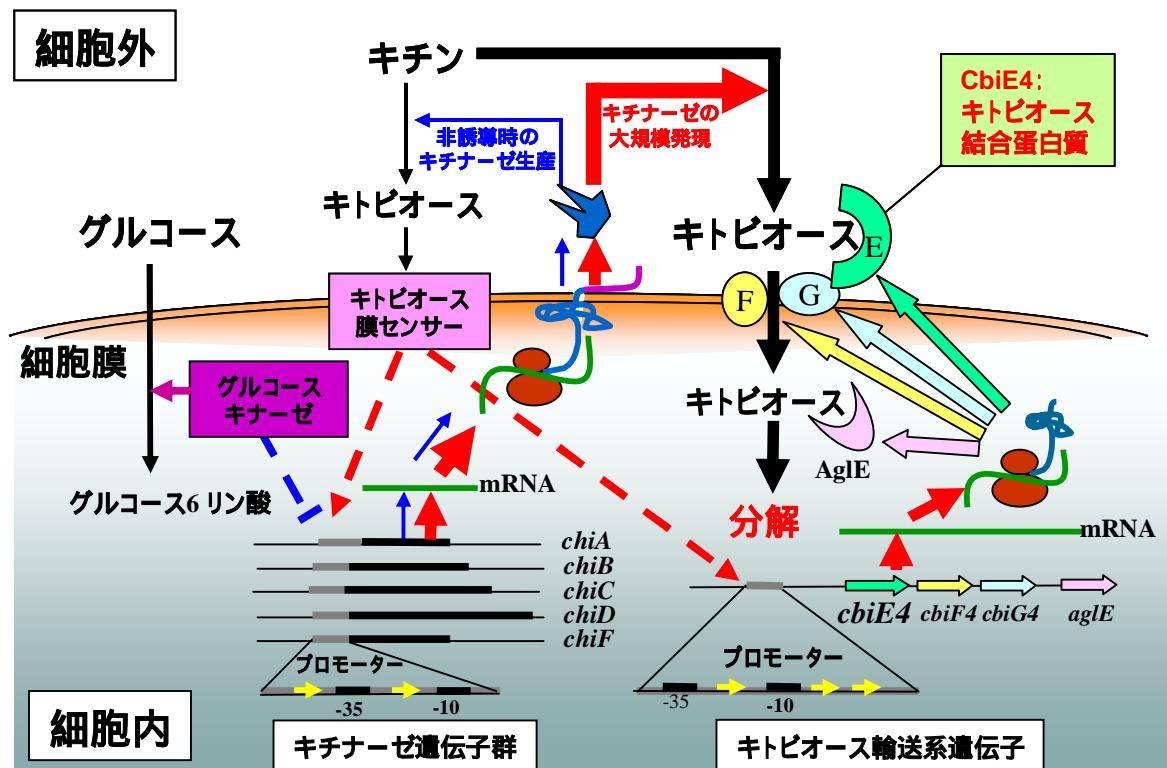


図2 放線菌における効率よいキチン分解機構を表す模式図

[その他]

研究課題名：放線菌のカタボライト制御機構の解明と有用酵素生産の制御
(クロロ安息香酸分解菌等の分解能解析技術の開発)

予算区分：バイテク先端技術 [形態・生理]

研究期間：2005年度(2004~2005年度)

研究担当者：藤井毅, 宮下清貴

発表論文等：

1) Fujii, et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69, 790-799 (2005)

[成果情報名] クロロ及びメチルチオトリアジン系農薬を完全分解できる複合微生物系

[要約] 土壌環流法により単離したシメトリン分解細菌とシマジン分解細菌あるいは分解細菌群を組み合わせて新たに作製した複合微生物系集積炭化素材は、クロロ及びメチルチオトリアジン系農薬を同時に分解・無機化することができる。

[担当研究単位] 化学環境部 有機化学物質研究グループ 土壌微生物利用ユニット

[分類] 技術

[背景・ねらい]

土壤が複数の有機化合物で汚染された場合、これらの汚染物質を同時に分解(無機化・無毒化)除去するバイオレメディエーション技術は開発されていない。シマジン分解菌群 CD7 やそこから単離した新規分解菌 CDB21 株は、シマジンのようなクロロトリアジン系除草剤を分解除去できるが、水田等で汎用されるシメトリン等のメチルチオトリアジンを分解する能力を持たない。そこで、新たにシメトリン分解菌を単離し、得られた分解菌を CDB21 株(シマジン分解菌)あるいは CD7(シマジン分解菌群)と組み合わせてクロロ及びメチルチオトリアジンを同時に分解・無機化できる複合微生物系の開発を行う。

[成果の内容・特徴]

1. CDB21 株は、クロロトリアジンを脱塩素して 2-ヒドロキシ体とした後、シアヌール酸を経て無機化することができる(図 1a)。
2. シメトリンを含む無機塩培地を、木質炭化素材を添加した水田土壤に環流すると、シメトリン分解菌が集積する。環流液中の分解菌を寒天平板培養により純化し、新規シメトリン分解菌 *Rhodococcus* sp. FJ1117YT(以下 FJ 株)を単離した。
3. FJ 株は、クロロトリアジンを分解しないが、シメトリン、ジメタメトリン等のメチルチオトリアジンを、メチルチオ基の酸化を介してスルホキシド体、スルホン体に変換した後、加水分解により 2-ヒドロキシ体にまで分解する(図 1b)。しかし、2-ヒドロキシ体を分解代謝することはできない。
4. クロロトリアジンを分解・無機化できる CD7 あるいはそこから単離した CDB21 株と、FJ 株を木質炭化素材に共存させた複合微生物系を構築した。この複合微生物系は、メチルチオトリアジン以外のイオウ源を含まない培地でクロロトリアジン系除草剤 2 種類(シマジン及びアトラジン)とメチルチオトリアジン系除草剤 2 種類(シメトリン及びジメタトリン)の計 4 種の農薬をすべて同時に分解できる(図 2)。分解速度は FJ 株 + CDB21 株複合系よりも FJ 株 + CD7 複合系の方が速い。

[成果の活用面・留意点]

1. 新規シメトリン分解菌 FJ 株と CDB21 株あるいは CD7 よりなる複合微生物系を集積させた木質炭化素材は、クロロ及びメチルチオトリアジン系除草剤で複合的に汚染された土壤及び水環境の修復や汚染防止のための微生物含有資材として利用できる。
2. 本複合微生物系集積炭化素材のメチルチオトリアジン系除草剤に対する分解能は、イオウ化合物の多い環境では低下する可能性がある。

[具体的データ]

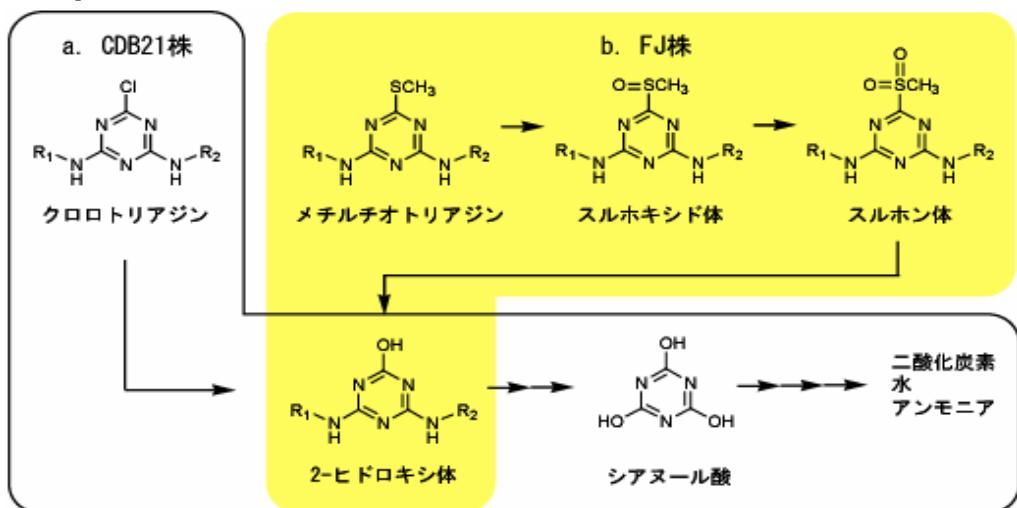


図 1 CDB21 株及び FJ 株によるクロロ及びメチルチオトリアジンの推定代謝経路

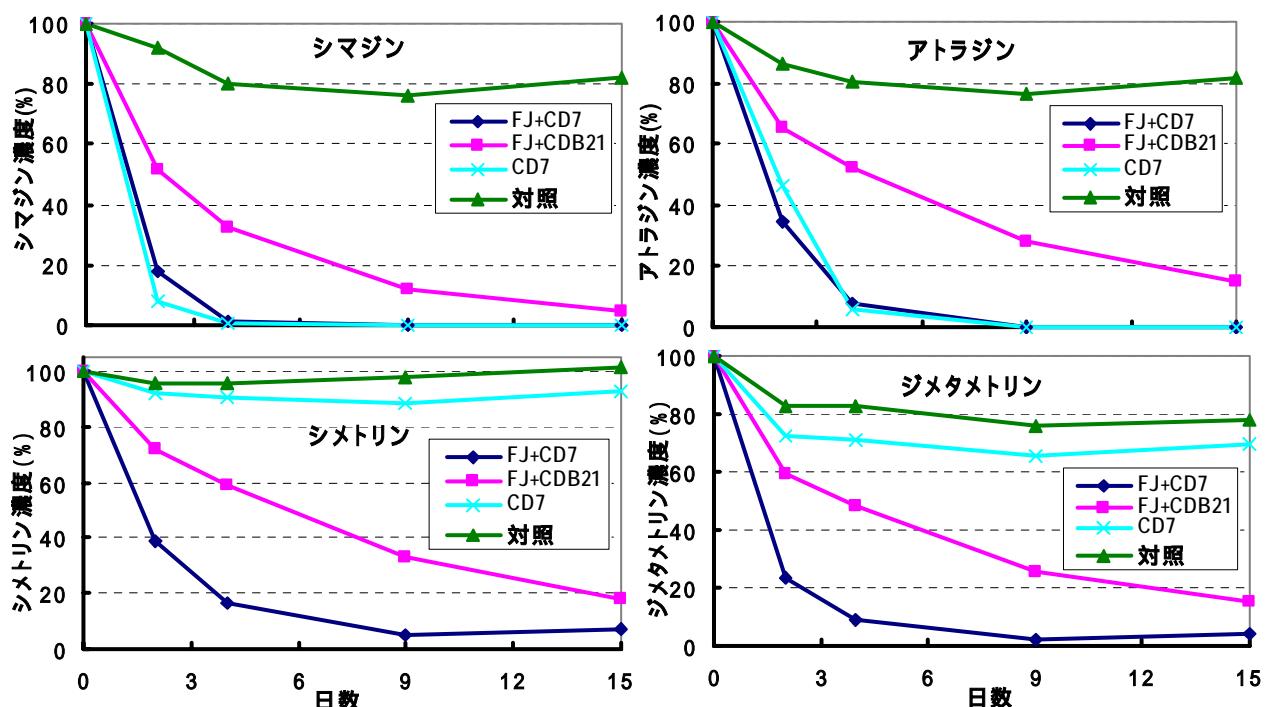


図 2 クロロ及びメチルチオトリアジン混合系の新規複合微生物系集積木質炭化素材による分解
(トリアジン初期濃度: 各 5mg/L, 上段: クロロトリアジン系除草剤, 下段: メチルチオトリアジン系除草剤)

[その他]

研究課題名: 複合分解微生物系の構造と機能の解明

(木質炭化素材を用いたトリアジン系除草剤汚染環境への分解菌接種技術の開発)

予算区分: 運営交付金

研究期間: 2005 年度 (2001 ~ 2005 年度)

研究担当者: 高木和広, 原田直樹 (興和総合科学研究所)

発表論文等:

- 1) 特許出願中 (特願 2005-187997: メチルチオ化トリアジンの分解能を有する新規な微生物)
- 2) Harada et al., Abstracts of the International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Program No.417 (2005)

[成果情報名] 珪藻の除草剤感受性を群集レベルの生育速度により簡易に検定する

[要約] 河川や水田土壤より採集した珪藻を用いて,珪藻群集の生育速度を測定する手法を開発した。この手法により珪藻群集の除草剤感受性を簡易に検定できる。

[担当研究単位] 化学環境研究部 有機化学物質研究グループ 農薬動態評価ユニット

[分類] 技術

[背景・ねらい]

現行の農薬等化学物質に対する生態影響評価は個体レベルの影響評価であり, 単一の生物種を用いた急性毒性試験の結果が利用されている。一方, より現実的な評価手法として地域性を考慮した群集レベルの影響評価が求められている。陸水生態系の重要な一次生産者である珪藻の群集レベルでの影響評価については, 従来の方法では, 評価対象地点の珪藻群集を構成している個々の種に対して個体レベルの試験を繰り返し行い, その結果の積み重ねにより群集レベルへの影響を予測している。すなわち, 評価を行うには, 採集試料から多数の珪藻培養株を確立するとともに, それぞれの珪藻培養株に対する検定を行う必要があり, 多大な労力と長い期間を要する。そこで, 河川および水田を評価対象地点として, 珪藻群集の除草剤感受性を簡易に検定する手法を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 河川及び水田土壤に生息する珪藻群集は, それぞれ河床の石表面のこすり取り及び土壤中珪藻の培養により集める。集めた珪藻については, 珪藻培養株の確立作業を経ずに除草剤感受性試験の珪藻試料に調製する(図1)。この手法により, これまで多大な労力を要していた培養株の確立作業を省くことができ, 簡易な検定が可能になる(図2)。
2. 珪藻群集の生長は, クロロフィルaの吸光度により測定する。さらに, 試験開始後, 24時間から96時間の間における生長速度の阻害を測定すると共に半数生長阻害濃度(24-96h ErC₅₀)を算出し, これを珪藻群集の除草剤感受性値とする(図3A)。この手法は, 確立した培養株に対して個々の検定を行う従来法(図3B)に比べ, 測定の際の時間と手間の大幅な削減が可能となる。
3. 検定実施例として, 河川上流部(桜川流域の源流部)及び中流域(同農村部)からそれぞれ採集した生物試料を用いて, トリアジン系除草剤であるジメタメトリンの感受性を検定した。ジメタメトリン感受性は, 源流域と比べ中流域が低いことが明らかとなつた(図3)。従来法と本手法の結果は同じ傾向を示すことから, 本手法が群集レベルでの影響評価手法として利用できることが示された。

[成果の活用面・留意点]

1. 農薬等化学物質の生態影響評価のより現実的な評価段階において, 陸水生態系の一次生産者によよばす簡易な影響評価手法として利用できる。
2. 懸濁物質が大量に混入した生物試料では, 吸光度のバックグラウンドが上昇し, 検定が困難になる。そのため, 採集場所や方法に留意し, 砂が大量に堆積している石からの採集は避ける。
3. 緑藻が大量に混入した生物試料では, 緑藻と珪藻間の薬剤に対する感受性差から珪藻群集への正確な評価ができなくなる。そのため, 明らかに緑藻のコロニーが確認できる石からの採集を避ける。

[具体的データ]

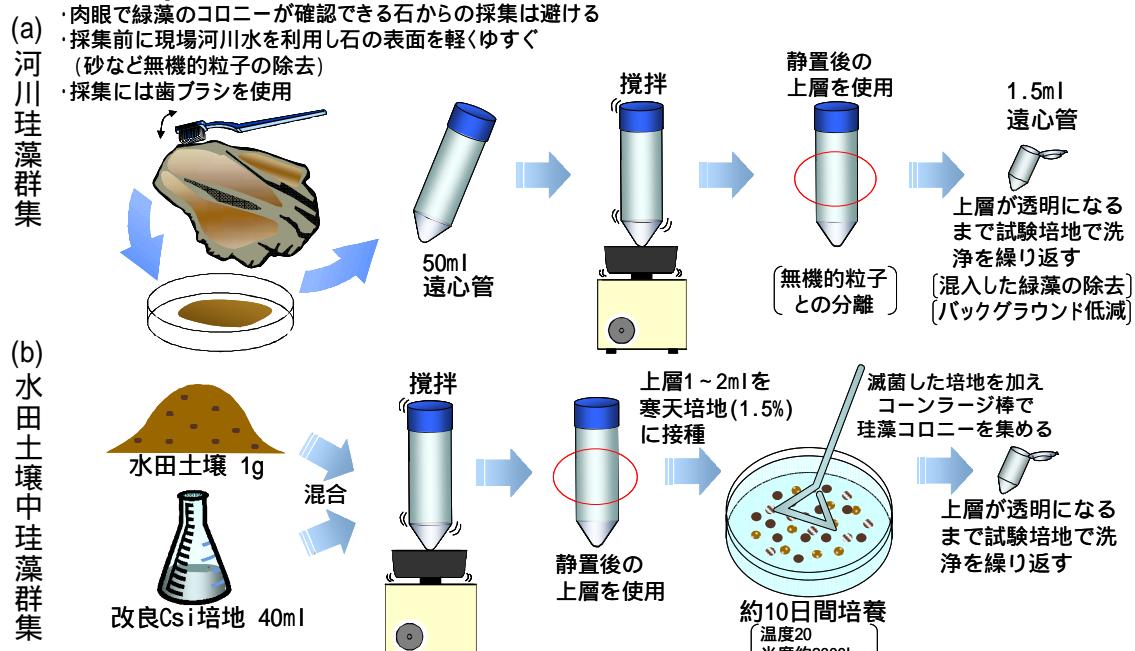


図1 試験生物の調製法

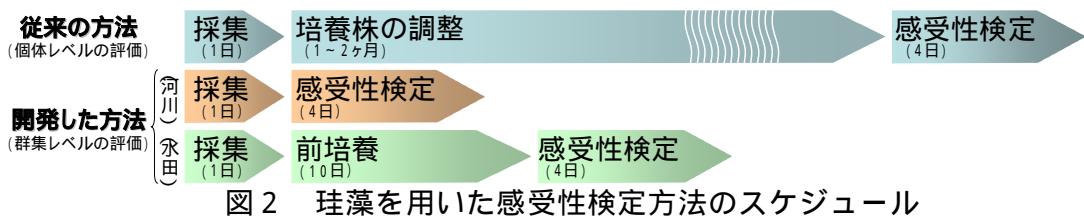


図2 珪藻を用いた感受性検定方法のスケジュール

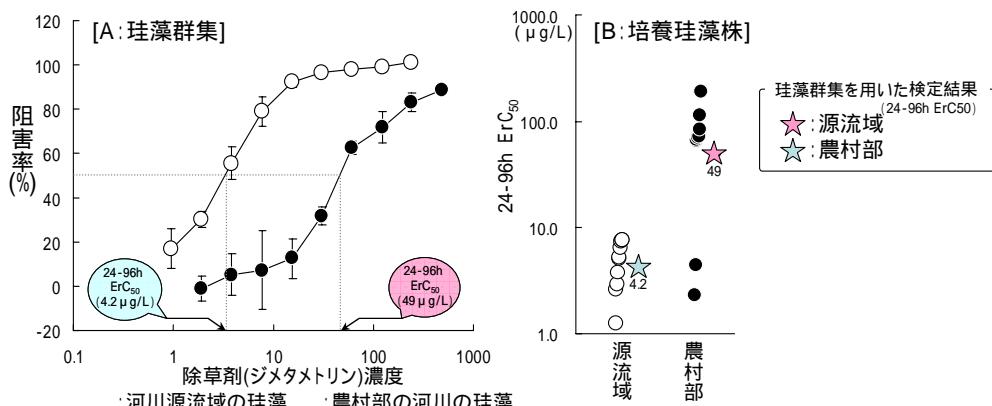


図3 河川における珪藻のジメタメトリン感受性 (24-96h ErC₅₀による比較)
(A:群集レベルの評価 B:個体レベルの評価)

[その他]

研究課題名：除草剤の高感度分析法の開発と藻類に対する影響評価法の検討

(水田用除草剤の水系における拡散経路の解明と藻類等水生生物に対する影響評価法の開発)

予算区分：環境研究[日韓水質保全], 運営交付金

研究期間：2005年度(2001~2007年度)

研究担当者：石原悟

発表論文等：

- Ishihara. Symposium series No. 899 Environmental fate and safety management of agrochemicals, American Chemistry Society, p112-123 (2005)

[成果情報名] 雜草群落に混生する野生化したアブラナ属植物の種間交雑種子の検出

[要約] フローサイトメトリーによるスクリーニングと RAPD マーカーを用いて、セイヨウナタネ、在来ナタネ、セイヨウカラシナが混生する雑草群落において、セイヨウナタネと在来ナタネとの間に、低頻度ながら相互に交雫があることを国内で初めて確認した。

[担当研究単位] 生物環境安全部 組換え体チーム

[分類] 学術

[背景・ねらい]

ほ場から逸出した遺伝子組換えナタネ（セイヨウナタネ；*Brassica napus*）個体やこぼれ落ち種子に由来する個体が、周囲に生育する野生化した非組換え体ならびに近縁野生種と交雫し、導入遺伝子が拡散することが指摘されている。本研究では、遺伝子組換えナタネから野生化した近縁種の在来ナタネ（*B. rapa*）やセイヨウカラシナ（*B. juncea*）への遺伝子流動の可能性を推定するために、フローサイトメトリー（FCM）による相対DNA量の比較とRAPDマーカーを用いて、雑草群落に混生する非組換えアブラナ属植物の種間交雫種子の形成についての現地調査とその識別を目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. 外部形態により識別した雑草群落中に混生するアブラナ属 3 種（在来ナタネ、セイヨウナタネ、セイヨウカラシナ）を、各個体の葉身を用いて FCM による相対 DNA 量を測定した。その結果、3 種の相対 DNA 量の平均値は種ごとに異なり、その範囲に重複が認められず、外部形態による種の識別と相対 DNA 量値はよく一致した（表 1）。
2. 交雫個体の判別のために、複数の RAPD マーカーの有無によりアブラナ属栽培品種の識別が可能であることを明らかにしたが（図 1），このことを人工交配によって得られた種間雑種が、両交配親の持つ RAPD マーカーを保持することから追認した。
3. 雜草群落に混生するアブラナ属植物について RAPD 解析を行った結果、RAPD 法で同定した種は、外部形態及び FCM で同定した種と一致した（表 2）。雑草群落個体から採取した種子を RAPD 法および FCM で解析した結果、在来ナタネ個体からセイヨウナタネを花粉親とする交雫種子 1 個（検出率 0.4%）およびセイヨウナタネ個体から在来ナタネを花粉親とする交雫種子 1 個（検出率 0.8%）を国内で初めて検出した。また、本研究の調査ではセイヨウナタネとセイヨウカラシナとの交雫種子は検出されなかった（表 3）。

[成果の活用面・留意点]

1. 今後、セイヨウナタネからの遺伝子流動の実態を明らかにするためには、野外での交雫個体の分布状況や個体群の更新に関する生態的調査が必要である。
2. セイヨウナタネとセイヨウカラシナとの自然交雫例は報告されているが、両種の相対 DNA 量は近似しているため、FCM のみで両者間の交雫個体、あるいはそれぞれの種と在来ナタネとの交雫個体の花粉親を確定することは不十分である。この場合は、複数の RAPD マーカーを組み合わせた解析による花粉親の判定が必要となる。

[具体的データ]

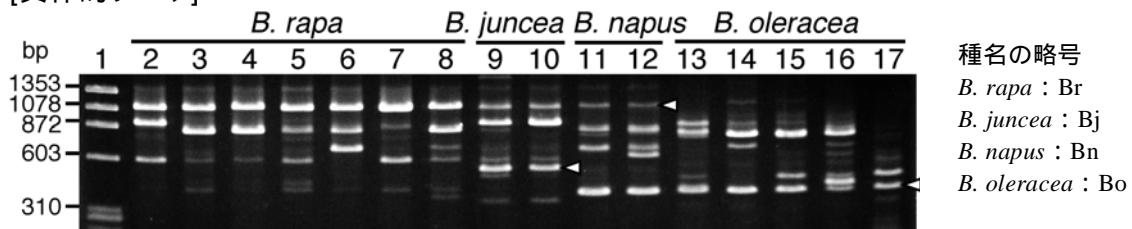


図1 アブラナ属栽培品種 (*B. rapa*: 在来ナタネ, *B. juncea*: セイヨウカラシナ, *B. napus*: セイヨウナタネ, *B. oleracea*: キャベツ) の RAPD 解析 (プライマーは OPA-08 を使用)

矢印は RAPD マーカーとして同定したバンドを示す。上から順に Br・Bj・Bn に共通のマーカー, Bj のみのマーカー, Bn・Bo に共通のマーカー。レーン 1 は, DNA サイズマーカー。

表1 外部形態で同定したアブラナ属 3 種の相対 DNA 量¹⁾の比較

植物名 ²⁾	個体数	平均値 ± 標準偏差	範囲
セイヨウナタネ	3	1.71 ± 0.03	1.69 ~ 1.74
在来ナタネ	5	0.73 ± 0.02	0.70 ~ 0.74
セイヨウカラシナ	8	1.57 ± 0.03	1.53 ~ 1.63

¹⁾ キャベツ (*B. oleracea*) の DNA 量に対する相対値。

²⁾ 外部形態に基づき同定した種。

表2 RAPD 法と外部形態および FCM によるアブラナ属 3 種の同定

調査地	RAPD法で同定した種	供試個体数	RAPDマーカー ¹⁾				外部形態とFCMで同定した種
			Bj (5)	Bj・Bn (1)	Bn (7)	Bn・Br (4)	
つくば市	在来ナタネ	7	-	-	-	+	在来ナタネ
	セイヨウカラシナ	10	+	+	-	-	セイヨウカラシナ
我孫子市	在来ナタネ	5	-	-	-	+	在来ナタネ
	セイヨウカラシナ	5	+	+	-	-	セイヨウカラシナ
	セイヨウナタネ	5	-	+	+	+	セイヨウナタネ

¹⁾ Br, Bj, Bn の RAPD マーカー, 括弧内はマーカー数。種名の略号は, 図1と同じ。

表3 混生群落でアブラナ属 3 種が生産した種子に由来する交雑個体の花粉親判定

種子親 ¹⁾	播種数	発芽率 (%)	供試個体数	交雑個体数 ²⁾	花粉親 ³⁾
在来ナタネ	300	82.3	230	1	セイヨウナタネ
セイヨウカラシナ	200	85.5	125	0	-
セイヨウナタネ	200	74.0	120	1	在来ナタネ

¹⁾ 外部形態と FCM により判定。

²⁾ FCM により判定。

³⁾ RAPD 法により判定。

[その他]

研究課題名：組換え体植物の開放系での利用に伴う遺伝子拡散のリスク評価のための基礎的研究

(遺伝子組換え作物の栽培が農業生態系における生物相に及ぼす影響評価並びに導入遺伝子の拡散に関する遺伝学的解析手法の開発と遺伝子拡散の実態解明)

予算区分：バイテク先端技術 [組換え生物総合研究]

研究期間：2005 年度 (1999 ~ 2003 年度)

研究担当者：松尾和人, 小林俊弘 (現理化学研究所), 田部井豊 (生物資源研究所), 堀元栄枝 (現佐賀大学), 伊藤一幸 (現国際農林水産業研究センター)

発表論文等：

1) 松尾ら, 研究成果 428, 161-168 (2005)

[成果情報名] キュウリ苗立枯病を抑える組換え微生物の土壤微生物相への影響

[要約] 作物病原菌の細胞壁を分解する酵素キチナーゼの遺伝子を導入した組換え根圈細菌は、キュウリ苗立枯病の発生を抑制する。また、この組換え根圈細菌の接種は根圈の土壤微生物の群集構造に影響を与えない。

[担当研究単位] 化学環境部 有機化学物質研究グループ 土壤微生物利用ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

作物病原糸状菌はその細胞壁にキチン質を含んでおり、このキチン質を分解する酵素キチナーゼは、作物病害菌を溶菌させることにより作物病害の抑止効果が期待される。そこで、生育初期のキュウリ根圈に定着性が高い根圈細菌にキチナーゼ遺伝子を導入した組換え根圈細菌を作出し、溶菌によるキュウリ苗立枯病の抑制効果を検討するともに、組換え根圈細菌の土壤中での挙動、根圈に生息する微生物相に及ぼす影響等を解析する。

[成果の内容・特徴]

1. キュウリ根圈土壤から選抜・単離した根圈に高い定着性を示す土壤細菌に海洋細菌由来のキチナーゼ遺伝子を導入した組換え根圈細菌 (*Pseudomonas putida* B1017R 株) は、高いキチナーゼ生産能を有している。
2. この組換え根圈細菌の培養液に、5 ~ 10 mm 発芽したキュウリ種子を 1 時間 浸すことにより、キュウリ苗立枯病の発病を抑制することができる (図 1)。
3. この組換え根圈細菌を土壤に接種した場合、その生菌数は 1 ヶ月後には接種時の 0.1% まで低下する。組換え根圈細菌を接種したキュウリ苗根圈の総細菌数 および総糸状菌数は組換え菌接種および非接種区の間で大きな変化はない。また、組換え根圈細菌を接種したキュウリ根圈の細菌相および糸状菌相の変遷を、変性剤濃度 匀配ゲル電気泳動 (DGGE) 法を用いて組換え菌非接種区と比較しても顕著な差は見出されない (図 2)。すなわち、本組換え根圈細菌は根圈微生物相に大きな影響 は及ぼさない。

[成果の活用面・留意点]

1. キチナーゼ生産能を付加した組換え微生物は、キュウリ苗立枯病だけにとどまらず糸状菌が引き起こす種々の作物病害の防除に利用が期待できる。
2. こうした組換え微生物の実用化に向けて、環境への影響を最小限に抑えるためには、 プラスミドに存在するキチナーゼ遺伝子を染色体に移し換えると同時に、薬剤耐性遺伝子を除去し、また、不要となった場合に自動的に死滅するようなスイサイド システムを導入するなど更なる改良を加えことが望ましい。

[具体的データ]

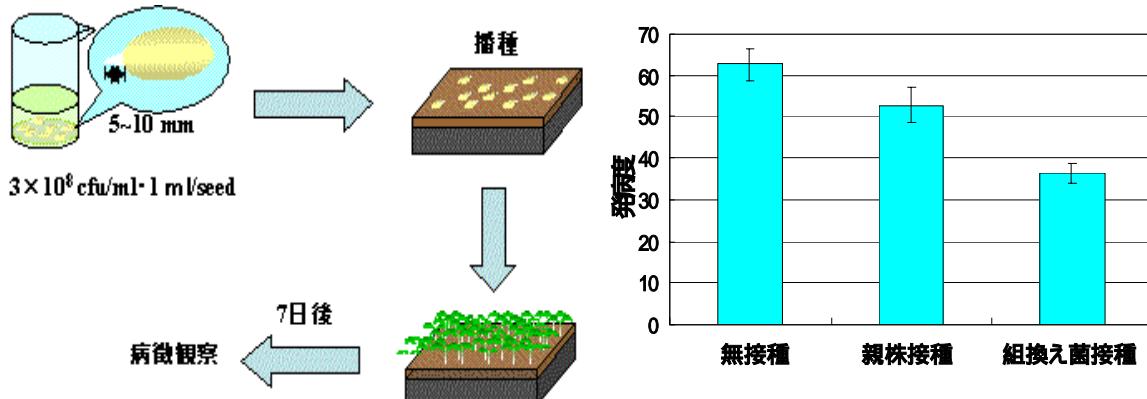


図1 キチナーゼ生産能を付与した組換え根圈細菌によるキュウリ苗立枯病の抑制

5~10mm程度に催芽したキュウリ種子を菌液に1時間浸漬し、病原菌で汚染された園芸用培土に播種、閉鎖系温室で25℃で栽培した。播種7日後、病徵を観察して正常に生育している個体数、地際部に褐変が生じている個体数、自立できなくなった個体数を計測し、発病度を算出した。

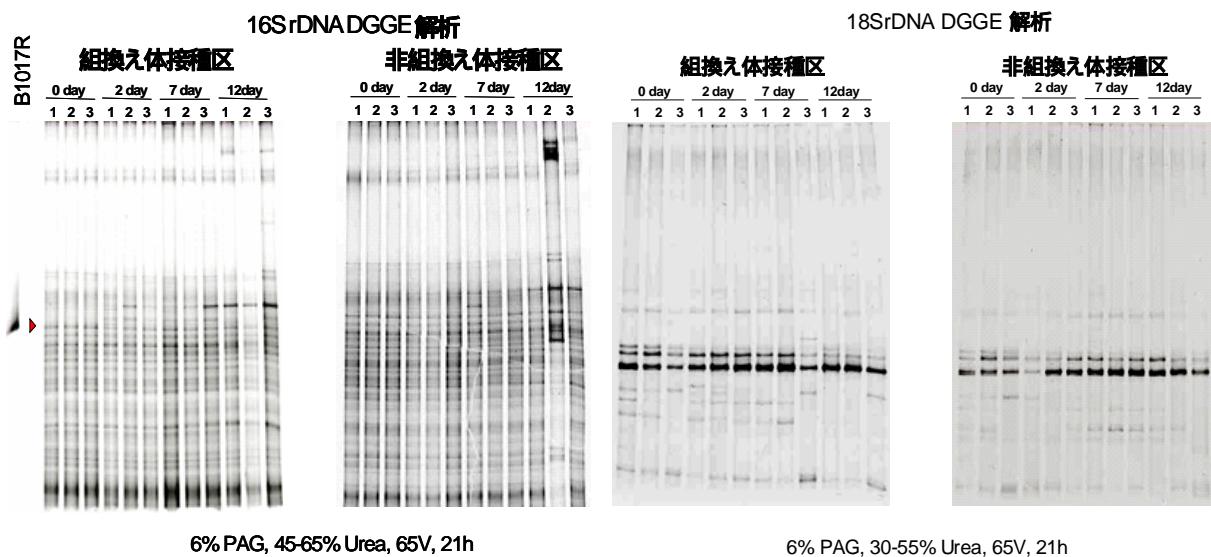


図2 組換え根圈細菌を接種したキュウリ根圈の細菌相（左）および糸状菌相（右）

組換え根圈細菌B1017R株の培養液に浸漬したキュウリ種子を播種し、継時的に土壤から直接DNAを抽出して、細菌（16SrDNA）および糸状菌（18SrDNA）のリボソームDNA配列の多様性をPCR-DGGE法で非組換え株接種区と比較した。図中の数字は3反復のサンプル番号を、三角印は組換え根圈細菌由来のバンドを表す。

[その他]

研究課題名：キチナーゼ遺伝子導入根圈細菌の安全性評価法の開発

（遺伝子組換え作物の栽培が農業生態系における生物相に及ぼす影響評価並びに導入遺伝子の拡散に関する遺伝学的解析手法の開発と遺伝子拡散の実態解明）

予算区分 : バイテク先端技術 [組換え生物総合研究]

研究期間 : 2005年度 (2004~2005年度)

研究担当者 : 藤井毅, 田村季実子, 大野雅弘 (現日産化学), 長谷部亮 (現農水省), 中島雅己 (茨城大), 阿久津克己 (茨城大)

[成果情報名] 導入天敵昆虫等の新たな生態系影響評価方法と導入判断基準

[要約] 導入天敵昆虫等の生態系影響をその可能性と程度とに分割し、定着等の評価項目について、それぞれ5段階の基準に基づいて評価する新たな定量的評価方法を開発し、導入判断基準となる指標値を提示する。

[担当研究単位] 生物環境安全部 昆虫研究グループ 導入昆虫影響ユニット

[分類] 行政

[背景・ねらい]

近年、外来生物の生態系に与える影響が問題となっている。導入天敵昆虫等（ダニ類を含む）は、非意図的に侵入してきた外来昆虫等の農業被害を防止するため、意図的に導入されるものである。平成11年に環境省は「天敵農薬に係る環境影響評価ガイドライン」を報告し、導入天敵昆虫等の生態系影響評価方法を示している。しかしながら、この方法は、定性的であり、海外の天敵昆虫等を導入する際に必要な事前評価のための判断基準や導入判断基準について、必ずしも明確ではない。そこで、ヨーロッパで提唱されている評価指標を使用する導入天敵昆虫等の定量的評価方法を参考に、我が国の環境にも適用可能な新たな基準を作成し、客観的で透明性の高い導入判断基準を提示することをねらいとする。

[成果の内容・特徴]

1. 導入天敵昆虫等が生態系に与える影響を、その可能性と程度とに分割し、定着等の6つの評価項目について、それぞれ我が国に適合した5段階の基準を設ける。
2. 導入天敵昆虫等の事前評価に係る時間やコストを最小限にするため、評価のプロセスを2ステップで行う。
3. 評価の第1ステップでは、種ごとに定着、分散性、寄主範囲の各評価項目について、1次基準に基づき、それぞれの影響の可能性（L）と程度（M）を5段階評価する（表1）。
4. 各項目におけるL×Mの値の総和が、対象とする天敵種の生態系影響1次指標である。
5. 評価の第2ステップは、我が国の生態系影響評価で必要な「稀少種や地域固有種への直接影響、近縁天敵との競争、近似種との交雑」の3項目からなる2次基準を新たに設け、これらに対するL×Mの和を求め、1次指標と合わせて、総合指標とする（表2）。
6. 我が国及び海外の導入天敵に関する生態系影響の事例（60種）を参考に指標を計算すると、生態系影響が報告されていない種は1次指標が40より少なくなったので、この数値を第1ステップでの導入基準とした。したがって、1次指標が40を超えない種は、第2ステップの評価を行うことなく、我が国への導入が可能である。
7. 1次指標が40を超える種については、第2ステップの評価を行うべきである。
8. 生態系影響が問題として海外でも指摘されている種は、総合指標が80を超えるので、導入を見送るか、野外に逃亡しない方策を探るべきである。
9. 我が国に導入された外来天敵昆虫等の生態系影響指標の計算例を示す（表3）。

[成果の活用面・留意点]

1. 対象種の既往のデータを利用して、比較的容易に生態系影響指標が算出でき、「導入判断基準」に基づいて天敵導入の可否を判定できるので、「天敵農薬に係る環境影響評価ガイドライン」に先立って、本法による事前評価を行うべきである。
2. 海外から導入する天敵昆虫等は、たとえ我が国に同一種が生息する場合でも、遺伝的に異なる可能性があるので、導入に当たっては、この指標を適用すべきである。
3. 天敵の海外からの導入に際しては、植物防疫法等の法令により規制される種がある。

[具体的データ]

表1 導入天敵昆虫等の生態系影響評価 1次基準

L : 生態系影響の可能性

L	定着(可能性)	分散性(導入ステージの余命)	寄主範囲(天敵の摂食量 体長)
1	越冬, 越夏不能	1週間未満	1mm未満
2	年1化, 休眠性なし	1週間以上2週間未満	1mm以上3mm未満
3	年2化以上, 休眠性なし	2週間以上3週間未満	3mm以上5mm未満
4	年1化, 休眠性有り	3週間以上4週間未満	5mm以上10mm未満
5	年2化以上, 休眠性有り	1ヶ月以上	10mm以上

M : 生態系影響の程度

M	定着	分散性(導入ステージの移動速度)	寄主範囲(標的種との関係)
1	ごく限られた地域だけ	10cm/s未満(無風, 以下同じ)	同属の種
2	10%未満の地域	10cm/s以上50cm/s未満	同科の種
3	10以上25%未満の地域	50cm/s以上1m/s未満	同目の種
4	25以上50%未満の地域	1m/s以上2m/s未満	同綱の種
5	50%以上の地域	2m/s以上	門内あるいは門をまたがる

表2 導入天敵昆虫等の生態系影響評価 2次基準

L : 生態系影響の可能性

L	稀少種や地域固有種への直接影響	近縁天敵との競争	近似種との交雑
1	生息場所・時期が異なる	寄主範囲が重ならない	なし
2	生息場所・時期が重なることがある	寄主範囲が一部重複	種間交雑率が低い
3	生息場所・時期が常に一部重なる	寄主範囲が50%程度重複	種間交雑率高, 雜種性比が偏る
4	生息場所・時期が5割程度重なる	寄主範囲が大部分重複	種間交雑率高, 雜種性比は1:1
5	生息場所・時期が完全に一致する	寄主範囲がほぼ一致	種間雑種は, 親より強勢

M : 生態系影響の程度

M	稀少種や地域固有種への直接影響	近縁天敵との競争	近似種との交雫
1	希少種等は寄主となりえない	常に勝敗に優劣なし/劣勢	形態的な差が大きい
2	希少種等の近縁種+30種以上が寄主	寄主の存在下で共存	雌雄交信信号に種間差がある
3	希少種等の近縁種+10以上30種未満が寄主	1-2種に対しては勝利	近似種の雌が多回交尾可能
4	希少種等の近縁種+10種未満が寄主	数種の相手に勝利	近似種の雌が1世代に2-3回交尾
5	標的種より希少種の近縁種を好む	広い範囲の相手に勝利可	近似種の雌は1世代に1回交尾

表3 導入天敵の生態系影響指標の計算例

天敵の種類/評価項目		定着	分散性	寄主範囲	1次指標	直接影響	競争	交雫	総合指標
ハモグリコマユバチ	L	5	1	2	31	1	4	1	37
	M	5	2	2		1	1	1	
	LxM	25	2	4		1	4	1	
チュウゴクオナガコバチ	LxM	20	8	3	31	3	15	2	51
オキシデンタリスカブリダニ	LxM	10	4	3	17	2	10	1	30
ヒメクサカゲロウ	LxM	25	2	20	47	6	10	4	67
ベダリアテントウ	LxM	20	9	6	35	3	2	1	41
ナナホシテントウ*	LxM	25	20	20	65	6	15	12	98

*ナナホシテントウは、日本を含むアジアに広く分布する種で、他国産の我が国への導入は行われていないが、欧米で環境影響の報告があるので指標を計算した。

[その他]

研究課題名：ハモグリバエ等に対する導入寄生蜂等が非標的昆虫に及ぼす影響の事前評価手法の開発

(ハモグリバエ等に対する導入寄生蜂等が非標的昆虫に及ぼす影響の評価)

予算区分：運営費交付金

研究期間：2005年度(2001~2005年度)

研究担当者：望月淳, 屋良佳緒利, 伊藤健二, 望月雅俊(果樹研)

[成果情報名] 外来昆虫ブタクサハムシの飛翔による分布拡大能力

[要約] 北米原産の外来昆虫であるブタクサハムシ成虫の飛翔活動は、羽化後日数および季節、日長の影響を受ける。飛翔時間の個体変異が大きく、移動性の高い個体が分布拡大に寄与する。1日当たり最大飛翔距離は25km以上と推定され、1年間に100km以上移動可能と考えられる。

[担当研究単位] 生物環境安全部 昆虫研究グループ 個体群動態ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

外来昆虫の分布拡大を予測するためには、飛翔による移動能力を定量化し、飛翔活動に影響する要因を明らかにすることが重要である。ブタクサハムシは北米原産の外来昆虫である。日本では1996年に千葉県で初めて発見されたが、それ以来急速に分布を拡大し、現在は青森県から鹿児島県までの全県で見つかっている。初期には、年間100km以上の速度で分布を拡大し、外来昆虫の中でも分布拡大速度が非常に大きい。一方、寄主植物であるブタクサを食い尽くすことがしばしば観察され、定着性が高いとも考えられる。そこで、本虫の飛翔活動を測定して、飛翔活動に影響を及ぼす要因を明らかにし、分布拡大能力を推定する。

[成果の内容・特徴]

1. 実験室(25℃, 日長16時間)において飛翔測定装置(ライトミル)を用いてブタクサハムシ成虫の23時間当たり飛翔時間を測定して、平均飛翔時間および1分より長く飛翔した個体の割合を算出し、飛翔活動の指標とする。
2. 飛翔活動性は羽化後4日目から増加し、7日目以降は長期間高い値を維持する(図1)。
3. 生殖休眠し越冬する第4世代は、他の世代に比べて飛翔活動が低い(図2)。休眠を誘起する短日(日長12時間)で幼虫~成虫期間を飼育した成虫は、長日(日長16時間)で飼育した成虫に比べて有意に飛翔活動が低い。このことから、短日または休眠が飛翔活動の低下を引き起こすこと、また秋に越冬地に向かって移動しないことが考えられる。
4. 飛翔時間は個体間に大きな変異がある(図3)。60分より長く飛翔した個体および全く飛翔しなかった個体を人為選抜すると、よく飛ぶ系統と飛ばない系統となり、飛翔活動性の遺伝変異が大きいことを示している(図4)。遺伝変異の大きいことから、野外においても移動性の高い個体と低い個体の両方が存在し、前者が分布拡大に寄与していると考えられる。
5. 23時間当たり最大飛翔時間は385分であり、この値と平均飛翔速度(1.1m/秒)を乗ずると約25km飛翔することになる。飛翔活動性は、短日の季節以外は高く、世代内でも長い期間高い。このことから、野外で1世代に少なくともこの距離を飛翔により分布拡大すると仮定すれば、1年間には4世代で100km以上移動することが可能であり、移動能力が高いと考えられる。

[成果の活用面・留意点]

1. 外来昆虫の飛翔活動を測定したデータは、分布拡大の予測に活用できる。ただし、野外では風などの気象条件も考慮する必要がある。
2. 本虫による雑草(ブタクサ、オオブタクサ)の抑制を検討する際に、移動分散予測の基礎資料となる。ただし、ヒマワリを食害し被害を与えることがあるので注意する。
3. 今後、越冬後の飛翔活動についても調査する必要がある。

[具体的データ]

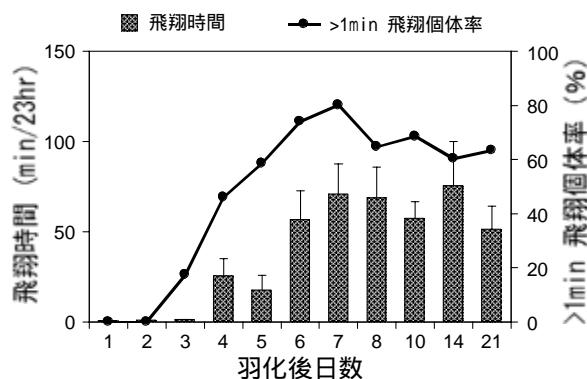


図1 ブタクサハムシ成虫の羽化後日数による飛翔活動の変化。
飛翔時間は平均値と標準誤差(縦棒)を示す。

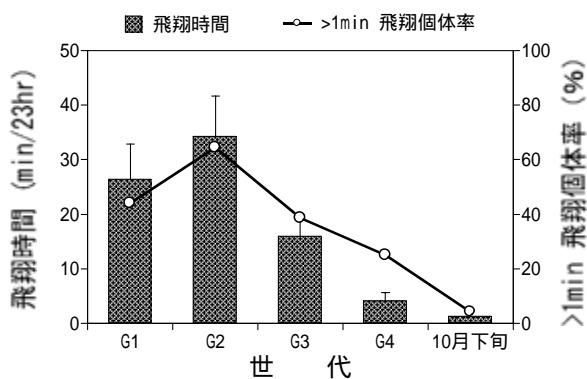


図2 ブタクサハムシ成虫の世代による飛翔活動の変化。
G1~G4は屋外網室で羽化した第1~4世代成虫, 10月月下旬は野外で採集した成虫を示す。

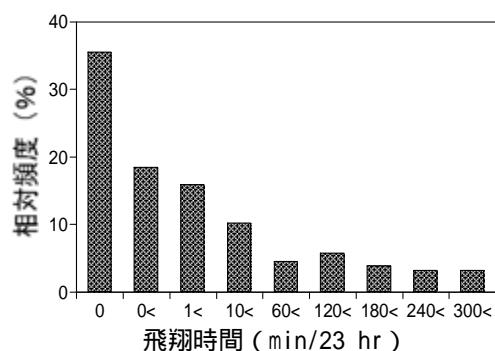


図3 ブタクサハムシ成虫の飛翔時間の頻度分布。
野外で採集した成虫を室内で飼育し,
次世代を実験に用いた。

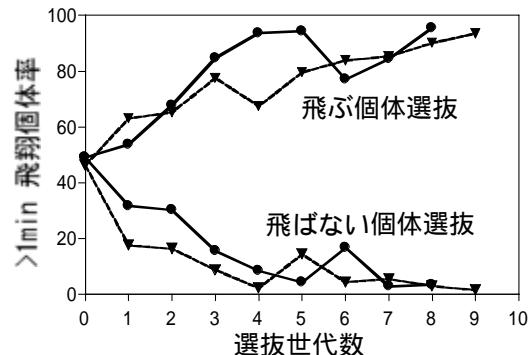


図4 飛ぶ個体(飛翔時間60分以上)と飛ばない個体(同0分)の選抜による飛翔個体率の変化。
2001年系統, 2003年系統

[その他]

研究課題名：寄主植物の空間分布および資源量がブタクサハムシ等の個体群動態に与える影響の解明

(寄主植物の空間分布がハムシ等の個体群動態に与える影響の解析)

予算区分 : 運営費交付金

研究期間 : 2005年度(2001~2005年度)

研究担当者: 田中幸一, 山中武彦

発表論文等:

- 1) 田中・山中, 日本昆虫学会第63回大会講演要旨集, 88(2003)

[成果情報名] 浮遊シダ植物のサンショウモはスルホニルウレア系除草剤に対して感受性が高い

[要約] 浮遊シダ植物のサンショウモは絶滅危惧種であり、主要な水田除草剤のスルホニルウレア系除草剤（ベンスルフロンメチルなど）に対して高い感受性を示す。その感受性は、OECDの推奨試験法が定めた試験植物種である緑藻のセレナストルムより著しく高い。

[担当研究単位] 生物環境安全部 植生研究グループ 植生生態ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

平成15年に農薬取締法が改正され、農薬の登録に際して、水産動植物への影響を評価することが義務づけられた。その評価法はOECDの推奨試験法に準拠しており、試験植物はセレナストルム（*Pseudokirchneriella subcapitata*）を主とする緑藻類を用いることになっている。しかし、緑藻類が水生植物界の農薬感受性を代表しているという科学的根拠は乏しい。一方、わが国のレッドデータブック（環境庁2000）には、水田周辺に分布する絶滅危惧植物のうち9種において農薬汚染が減少要因の候補であると記載されている。そこで、水田で使用される主要な農薬としてスルホニルウレア系除草剤（SU剤）を対象とし、絶滅危惧植物に対するSU剤の急性毒性を明らかにして、それらの急性毒性をセレナストルム（文献値：Ishihara(2005)）と比較することで、セレナストルムのSU剤感受性の代表性を評価する。

[成果の内容・特徴]

1. 絶滅危惧植物のサンショウモ（図1）、オオアカウキクサ、デンジソウ、スブタと普通植物のウキクサ、コウキクサを用いて、室内水耕試験と屋外土耕試験を行い、主要なSU剤であるベンスルフロンメチル（BSM）の急性毒性を明らかにする（表1）。
2. BSMの急性毒性は、暴露濃度が減衰する土耕試験に比べて、暴露濃度が一定である水耕試験の方が概して高い（表1）。
3. 試験植物のうち、浮遊シダ植物のサンショウモが、水耕と土耕、どちらの暴露試験においても最も高いBSM感受性を示している（表1）。このサンショウモのBSM感受性は、緑藻のセレナストルムより著しく高く、セレナストルムではサンショウモのBSM感受性を代表できないことを示唆する。
4. 他のSU剤であるピラゾスルフロンエチル、イマゾスルフロンについて、サンショウモを用いた屋外土耕試験を行った結果、2剤ともBSMと同等な毒性を持っている（表2）。

[成果の活用面・留意点]

1. 河川でのSU剤濃度は、最高値を示した後に減衰する。したがって、SU剤の生態影響を評価するためには、暴露濃度が減衰する土耕試験を活用することが望ましい。
2. サンショウモのBSM感受性は、在来藍藻のメリスモペディア（*Merismopedia tenuissima*）と同等であり（Ishihara 2005），メリスモペディアを用いれば浮遊シダ植物の高いBSM感受性を代表できる。
3. 単子葉植物におけるBSM感受性は普通種（ウキクサ、コウキクサ）の方が絶滅危惧種（スブタ）より高いことから、SU剤に対する高感受性は絶滅危惧水生植物に特有な形質とはいえない。

[具体的データ]



図1 浮遊シダ植物のサンショウモ (*Salvinia natans* All.) . 絶滅危惧 II 類 . 試験植物は、茨城県霞ヶ浦周辺のハス田地帯で採取した集団を農業環境技術研究所（屋外）で育成し、自然増殖した幼植物を供試した .

表1 水田除草剤ベンスルフロンメチルの急性毒性

植物種	分類群	絶滅危惧 ランク	水耕試験*		土耕試験 (2002年5月)**		
			暴露期間 (日)	EC50 ($\mu\text{g/L}$) §	暴露期間 (日)	ED50 (g/ha) †	EC _{IDAT} 50 ($\mu\text{g/L}$) ‡
オオアカウキクサ	シダ	類	12	2.0-5.8	20	8.5	6.8
サンショウモ	シダ	類	12	0.22-1.6	20	2.9	1.9
デンジソウ	シダ	類	10	28-47 a	20	14	10
スブタ	単子葉	類	20	4000 b			
コウキクサ	単子葉	普通	12	1.9-6.0	20	37	27
ウキクサ	単子葉	普通	12	6.1-17	20	124	86
セレナストルム ¶	緑藻	普通	3	62			
メリスモペディア ¶	藍藻	普通	3	1.5			

注) * 14 時間明期 25 / 暗期 15 , ** 自然光条件で水田下層土を使用 , § 50%影響処理濃度 , † 50%影響施用量 , ‡ 処理 1 日後の 50%影響濃度 , a 生重の相対生長速度 (RGR) , b 幼根伸長 , a と b 以外 (無印) : 乾重の RGR , ¶ Ishihara (2005) Symposium Series 899, 112-123, American Chemistry Society.

表2 サンショウモに対するスルホニルウレア系除草剤 3 剤の急性毒性(2003年5月の土耕試験*)

除草剤	標準施用量 (g/ha)	ED50 (g/ha) †		EC _{IDAT} 50 ($\mu\text{g/L}$) ‡	
		推定値	95%信頼区間	推定値	95%信頼区間
ベンスルフロンメチル	51-75	2.7	1.9-4.0	2.2	1.5-3.5
イマゾスルフロン	90	2.9	2.5-3.3	2.4	2.1-2.8
ピラゾスルフロンエチル	21	1.5	0.93-2.6	0.84	0.53-1.4

注) * 自然光条件で水田下層土を使用 (20 日間暴露) , † 50%影響施用量 , ‡ 処理 1 日後の 50%影響濃度 .

[その他]

研究課題名 : 植物多様性と水田除草剤流出との関係の解明

(スルホニルウレア系水田除草剤施用が水田周辺の植物群落の種多様性に及ぼす影響)

予算区分 : 運営費交付金・環境研究 [日韓水質保全]

研究期間 : 2005 年度 (2002 ~ 2007 年度)

研究担当者 : 池田浩明

発表論文等 :

1)Aida et al., Weed Biology and Management, 4, 127-135, (2004)

[成果情報名] 土壤中における L-DOPA の植物生育阻害活性の消長

[要約] マメ科植物のムクナが生産する植物生育阻害物質 L-DOPA は、土壤中では吸着反応や変換反応などによってその生理活性を失う。土壤 pH の高い土壤では変換反応が速やかに進行するため、L-DOPA による植物生育阻害作用は起こりにくい。この吸着反応および変換反応には、L-DOPA の持つカテコール構造が深く関わっている。

[担当研究単位] 生物環境安全部 植生研究グループ 化学生態ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

マメ科植物のムクナ(*Mucuna pruriens*)は、植物体内に高濃度の L-DOPA(図 1 A)を持つ。この L-DOPA は強い植物生育阻害活性を示すことから、ムクナの生育地周辺では L-DOPA による植物生育障害が考えられる。しかし、L-DOPA の土壤中での挙動が不明であるため、野外での L-DOPA の影響を適正に評価することはできない。本研究では、L-DOPA の影響を評価するために土壤環境中で受ける化学反応およびその特性を解明するとともに、これらの反応にともなう L-DOPA の生理活性の変化を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

- 1 土壤に添加した L-DOPA は、反応時間の経過とともに土壤溶液中から消失する(図 2)。この消失には、(1)反応開始後 0~8 時間に主として起こる吸着反応(Phase 1), (2)反応時間にかかわらず一定速度で起こる変換反応(Phase 1, 2, 3), (3)反応開始 72 時間以降に急激に起こる微生物による分解反応(Phase 3), の 3 つが関与している。
- 2 . L-DOPA が土壤に吸着された場合および土壤によって変換された場合には、いずれも植物生育阻害活性をほとんど示さなくなる。
- 3 . 土壤による L-DOPA の変換反応は常に一定速度で起こるため、一般に変換反応の影響は吸着反応よりも大きい。この変換反応は、土壤 pH が高いほど速やかに進行する(図 3)。土壤が存在しなくても pH が高ければ L-DOPA の変換反応は起こるが、土壤の共存下ではこの変換反応は加速されることから、この変換反応は触媒的な反応と考えられる。同じ土壤 pH で変換速度を比較すれば、沖積土壤 > 石灰質土壤 > 火山灰土壤の順となる。
- 4 . 土壤による変換反応により、L-DOPA は暗色の腐植に類似した物質へと変化する。
- 5 . L-DOPA のカテコール構造から OH 基が一つ除かれた L-チロシン(図 1 B)や OH 基が二つ除かれた L-フェニルアラニン(図 1 C)では吸着反応および変換反応はほとんど起こらない。このことから、土壤による L-DOPA の吸着反応および変換反応には、L-DOPA のカテコール構造(*o*-ジヒドロキシベンゼン構造)が深く関与している。
- 6 . 土壤が存在すると、L-DOPA の植物生育阻害活性は大きく低下する(図 4)。その低下の程度は、土壤吸着の影響が大きいとされる除草剤 2,4-D の場合よりもはるかに大きい。L-DOPA の植物生育阻害活性は、沖積土壤(土壤 pH 5.4) > 火山灰土壤(土壤 pH 5.6) > 石灰質土壤(土壤 pH 7.4)の順となる。土壤溶液中における L-DOPA 濃度も同じ順序となる。

[成果の活用面・留意点]

- 1 . 土壤 pH が高い石灰質土壤では、L-DOPA による生育阻害作用はほとんど起こらないと考えて良い。既報のポット試験においては、火山灰土壤では L-DOPA の植物生育阻害作用が起こりにくいことが確認されている。しかし、吸着・変換反応が起こりにくい土壤では、植物生育阻害作用が発現する可能性がある。
- 2 . カテキン等他のカテコール化合物も、L-DOPA と同様の反応により失活する。

[具体的データ]

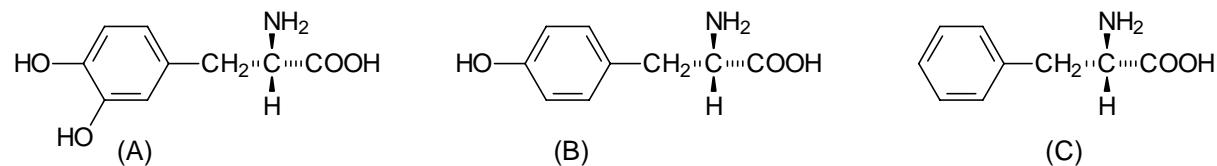


図1 L-DOPA(A)およびその類縁化合物(B: L-チロシン, C: L-フェニルアラニン)の化学構造

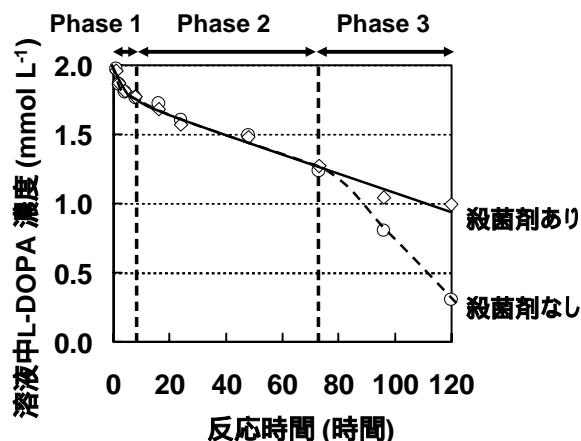


図2 土壌懸濁液(液相)中における L-DOPA 濃度の経時的変化

土壤:火山灰土壤 50 mg, L-DOPA 添加量: 2 mM 5 mL, 平衡 pH: 5.6 - 5.7, 殺菌剤: クロロホルム

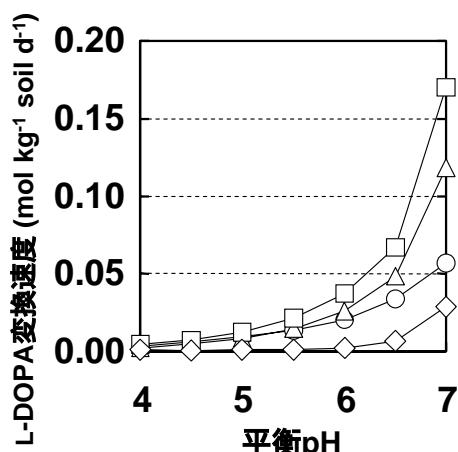


図3 土壌溶液中における L-DOPA の変換速度

: 沖積土壌, : 石灰質土壌, : 火山灰土壌, : 土壌なし. 実験条件: 土壌 50 mg, L-DOPA 添加量: 2 mM 5 mL.

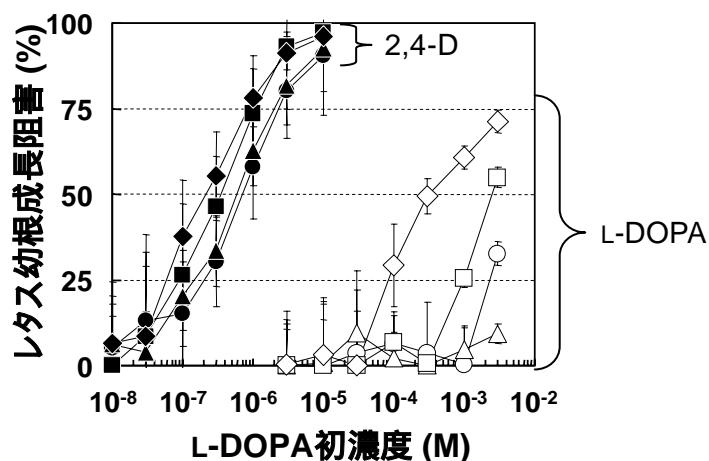


図4 L-DOPA および 2,4-D の植物生育阻害活性におよぼす土壌の影響

黒色: 2,4-D, 白色: L-DOPA, : 土壌なし, : 沖積土壌 (土壤 pH 5.4), : 火山灰土壌 (土壤 pH 5.6), : 石灰質土壌 (土壤 pH 7.4).

[その他]

研究課題名: 導入・侵入植物の生物検定法による他感作用の検定と作用物質の同定
 (カテコール関連物質を放出する植物の導入が周辺の植物ならびに土壤環境に及ぼす影響解明)
 予算区分: 運営費交付金
 研究期間: 2005 年度 (2001 ~ 2005 年度)
 研究担当者: 平館俊太郎, 藤井義晴, 荒谷博
 発表論文等:

- 1) 古林ら, 日本国土壤肥料学会講演要旨集第 50 集 23 (2004)
- 2) Hiradate et al., Soil Sci. Plant Nutr., 51 (4), 477-484 (2005)
- 3) Furabayashi et al., Soil Sci. Plant Nutr., 51 (6), 819-825 (2005)

[成果情報名] 固体NMRによるアロフェン・イモゴライトの検出とAl配位数解析

[要約] 固体高分解能核磁気共鳴(固体NMR)を用いて土壤中の²⁹Siを観測すると、粘土鉱物であるイモゴライトおよびアロフェンを特異的かつ非破壊的に検出できる。²⁷Alを観測するとAlの配位数情報が得られ、火山由来成分の風化過程解析などに応用できる。

[担当研究単位] 生物環境安全部 植生研究グループ 化学生態ユニット、環境化学分析センター 放射性同位体分析研究室

[分類] 技術

[背景・ねらい]

土壤の主成分はSiとAlであり、これらの元素がどのような化学形態で存在しているかによって土壤の化学的性質は決定される。現在、一般に広く実施されている土壤中SiおよびAlの化学形態分析法には、特定の試薬によって土壤から抽出されるSiとAlの含量から類推する方法などがある。しかし、これらの手法では土壤に化学的処理を施すため、化学的処理前の状態を正しく推定していない可能性もある。このため、固体試料を非破壊で分析可能な固体高分解能NMRを用いて、土壤中SiおよびAlの化学形態を分析する手法を開発する。

[成果の内容・特徴]

- 既往の文献情報および既知物質の²⁹Si-NMRスペクトル分析から、土壤の²⁹Si-NMRスペクトルに現れるシグナルは、次の3つの領域に要約できる：(1) -78 ppm付近のアロフェンおよびイモゴライト、(2) -95 ppm付近のSi四面体シート(層状ケイ酸塩粘土など)、(3) -110 ppm付近のSiO₂の組成を持った物質(石英、火山ガラスなど)。これらの中でも(1)のシグナルはアロフェンおよびイモゴライトに特異的であることから、土壤中におけるこれらの鉱物の特異的検出法として利用可能である(図1)。
- ²⁹Si-NMR分析により、アロフェン黒ぼく土では表層よりも下層でアロフェン・イモゴライト含量が著しく高いことが観測できる(図1CD)。茶園の表層土壤は、施肥によって強酸性化している畝間(pH 3.3-4.1)ではアロフェンおよびイモゴライトが消失(溶解)している様子が観測できる(図1EF)。
- 既往の文献情報および既知物質の²⁷Al-NMRスペクトル分析などから、土壤の²⁷Al-NMRスペクトルに現れるシグナルは、次の2つの領域に要約できる：(1) 0 ppm付近の6配位Al(アロフェン、イモゴライト、Al八面体シート、Al-腐植複合体など)、(2) 55 ppm付近の4配位Al(火山ガラス、Si四面体シートに取り込まれたAl、多くの一次鉱物など)。4配位Alは土壤の母材に含まれることが多い一方で、6配位Alは一旦母材が風化を受けた後に生成することが多い。このため、固体高分解能NMRで(4配位Al):(6配位Al)比を明らかにすれば、土壤の風化の指標となりうる(図2)。
- ²⁷Al-NMR分析により、アロフェン黒ぼく土の表層および下層(図2EF)、七本桜軽石層(13,000年前)および今市軽石層(14,000年前)(図2GH)では、すでに大部分のAlは4配位から6配位へと変換(風化)されている様子が観測できる。

[成果の活用面・留意点]

- 土壤の風化程度やアロフェン・イモゴライトの生成は、特に火山灰土壤の化学的特性や植物生育特性と密接に関連しており、土地利用や生産性改善の基礎資料となる。
- 分析対象試料は、乳鉢で磨碎するだけで固体高分解能NMRに供試可能であるが、磁性鉱物を磁石等で除去した方がより良いスペクトルが得られる。1試料あたりの分析時間は、²⁹Si-NMRで1日程度、²⁷Al-NMRで1時間程度である。

[具体的データ]

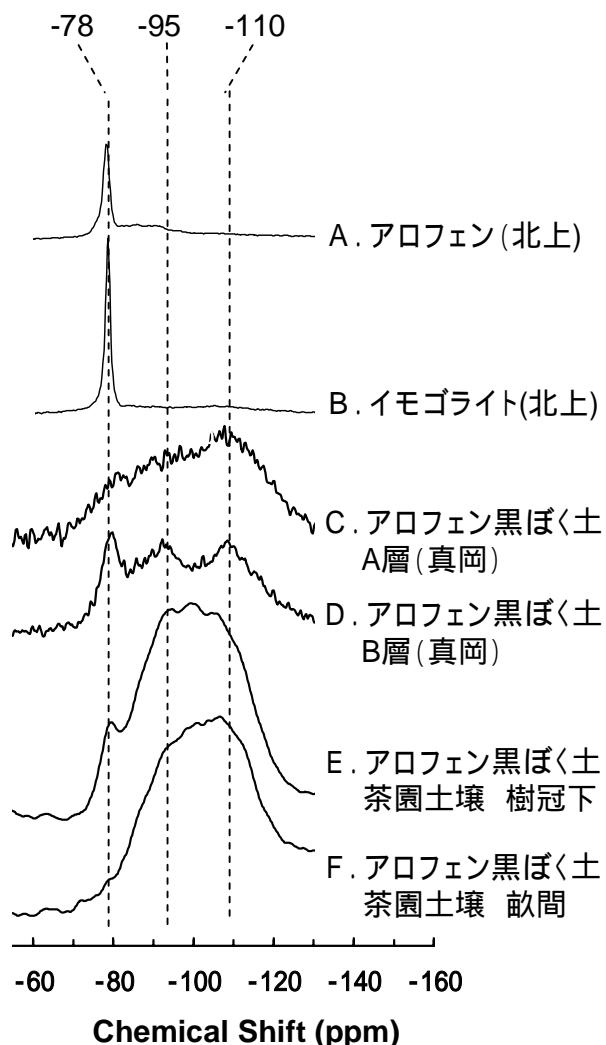


図1 アロフェン(A), イモゴライト(B), アロフェン黒ばく土(C および D), 茶園土壤(E および F)の固体高分解能²⁹Si-NMRスペクトル

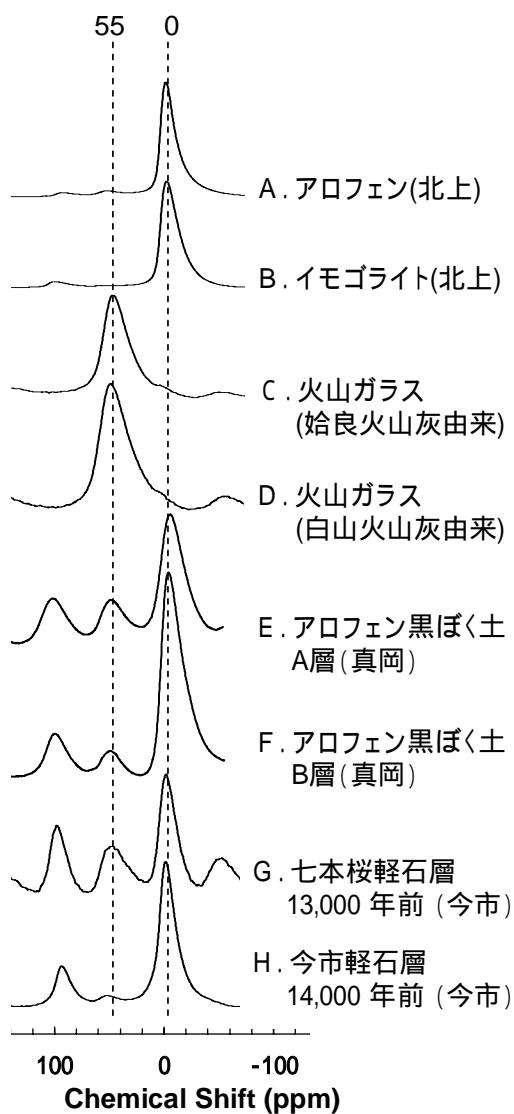


図2 アロフェン(A), イモゴライト(B), 火山ガラス(C および D), アロフェン黒ばく土(E および F), 軽石層(G および H)の固体高分解能²⁷Al-NMRスペクトル

[その他]

研究課題名：超強酸性土壤におけるアルミニウム化学種の同定
(カテコール関連物質を放出する植物の導入が周辺の植物ならびに土壤環境に及ぼす影響解明)

予算区分：文科省：科研費[基盤研究 A]
研究期間：2005年度(2003~2005年度)
研究担当者：平館俊太郎, 山口紀子, 伊藤豊彰(東北大農), 三枝正彦(東北大農)
発表論文等：

- 1) Hiradate, Soil Sci. Plant Nutr., 50(3), 303-314 (2004)
- 2) Hiradate and Wada, Clays Clay Miner., 53(4), 401-408 (2005)
- 3) Hiradate, Clays Clay Miner., 53(6), 653-658 (2005)

[成果情報名] 13量体Alは根圏環境中で不安定なため生育阻害要因となりえない

[要約] 13量体Alは強い植物生育阻害作用を持っているが、根圏環境中では共存する低分子有機酸や腐植酸のために不安定となる。このため、自然界で13量体Alが植物の生育を阻害する条件はほとんど成立しない。

[担当研究単位] 生物環境安全部 植生研究グループ 化学生態ユニット、環境化学分析センター 放射性同位体分析研究室

[分類] 学術

[背景・ねらい]

土壤pHが4~5の酸性土壤においては、土壤から溶出するAlが主な植物の生育を阻害する因子となっている。しかし、Alはさまざまな化学形態で存在することができ、植物生育阻害因子となっているAlの化学形態については諸説がある。13量体Alは、モノマーAlイオン(Al^{3+} , $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)_2^+$ など)と水酸化物イオン(OH^-)の反応から生成されるポリマーAlイオンであり、 $[AlO_4Al_{12}(OH)_{24}(H_2O)_{12}]^{7+}$ の構造を持つ(図1)。13量体Alは、純粋な実験系では容易に生成され、かつモノマーAlイオンよりも強い植物生育阻害活性を示すことから、酸性土壤における植物生育阻害の主要因とする説が提案されている。そこで、13量体Alの特異的検出法を確立し、13量体Alが酸性土壤中で植物の生育阻害因子となっているか否かを明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 13量体Alは、液体NMRおよび固体NMRのいずれでも特異的に検出できる(図1)。
2. 10 mMモノマーAlイオン水溶液に水酸化物イオンを加えて中和すると、平衡pH4.2~4.3付近で13量体Alの生成量は最大となる(図2)。この時、最初に存在していたモノマーAlイオンの8割以上が13量体Alへと変換され、Alに対して加えた水酸化物イオンのモル比(OH/Al比)はおよそ2となる。
3. 根圏の土壤中には低分子有機酸や腐植酸が豊富に含まれるが、Alとの親和性が高い低分子有機酸であるシュウ酸(ジカルボン酸)やクエン酸(トリカルボン酸)が存在すると、13量体Alの生成は大きく抑制される(図2)。腐植酸(ポリカルボン酸)もAlとの親和性は高く、同様の効果を持つ。しかし、Alとの親和性が低い酢酸(モノカルボン酸)では、13量体Alの生成を抑制する効果は低い(図2)。
4. 13量体Alは純粋な水溶液中でも長期間安定して存在できず、生成後30日目には大部分が消失する(図3)。低分子有機酸は13量体Alの消失を促進し、その効果の大きさはAlとの親和性の順序と一致する(クエン酸>シュウ酸>酢酸)(図3)。
5. 腐植酸は13量体Alと結合し、沈殿することによって13量体Alを水溶液中から除去する。腐植酸とともに沈殿した13量体Alは、徐々に分解される。
6. 根圏では低分子有機酸や腐植酸が豊富に存在することから、13量体Alが植物生育阻害作用を発現し続けるような環境条件はほとんど存在しない。

[成果の活用面・留意点]

1. 2:1型層状ケイ酸塩粘土、硫酸イオン、モノケイ酸、リン酸イオンも水溶液中の13量体Alを沈殿・除去することから、土壤溶液中で13量体Alは存在しにくいと言える。
2. 酸性土壤における植物生育阻害のメカニズムを解明するためには、13量体AlではなくモノマーAlイオンが植物生育に及ぼす影響のメカニズムを解明する必要がある。同様に、Al耐性植物を作出するうえでは、13量体AlではなくモノマーAlイオンに対する耐性植物を作出する必要がある。

[具体的データ]

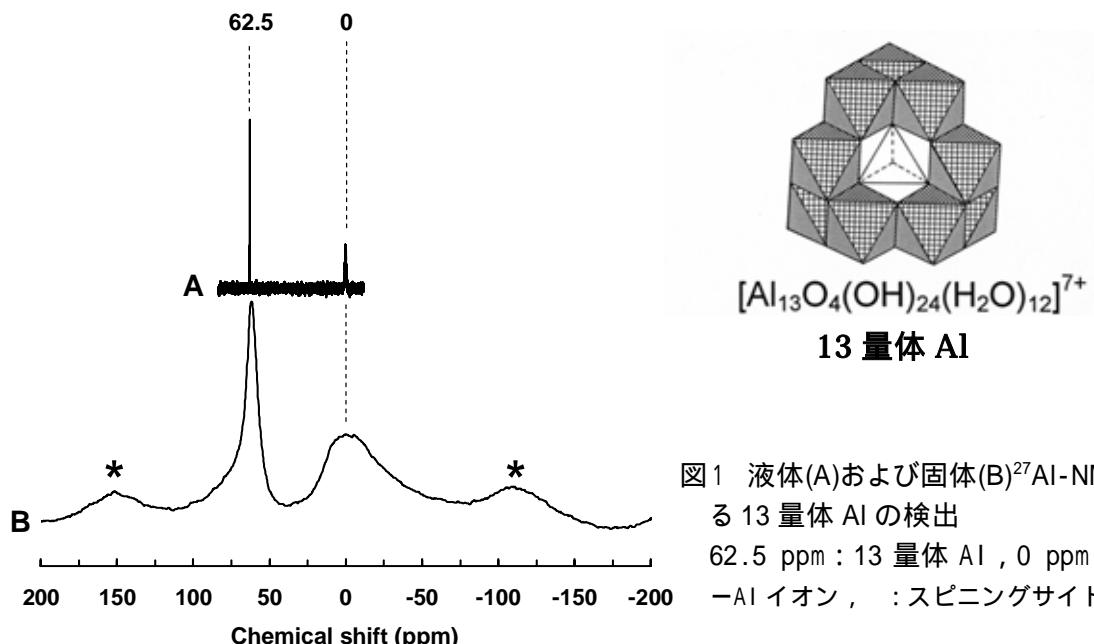


図1 液体(A)および固体(B) ^{27}Al -NMR による13量体Alの検出
62.5 ppm: 13量体Al, 0 ppm: モノマーAlイオン, :スピニングサイドバンド.

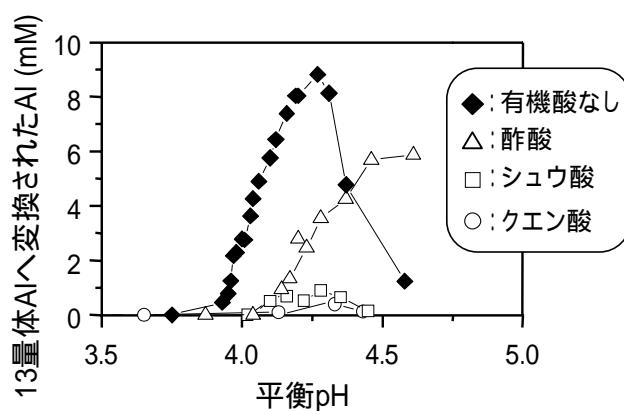


図2 13量体Alの生成に及ぼす酢酸, シュウ酸, およびクエン酸の影響

有機酸+モノマーAlイオン水溶液に, 水酸化物イオンを添加. モノマーAlイオン初濃度: 10 mM. 酢酸: 10 mM, シュウ酸: 5 mM, クエン酸: 3.3 mM.

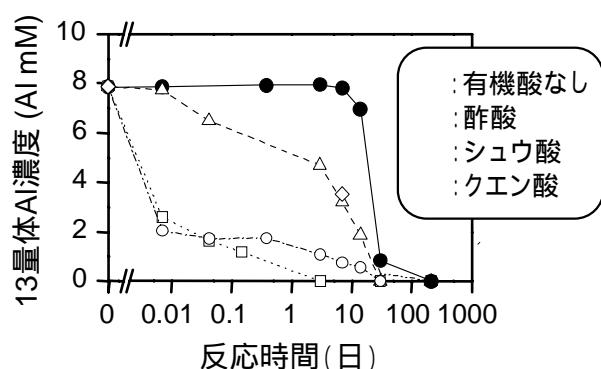


図3 13量体Alの消失に及ぼす酢酸, シュウ酸, およびクエン酸の影響

13量体Al水溶液に有機酸を添加. 酢酸: 10 mM, シュウ酸: 5 mM, クエン酸: 3.3 mM.

[その他]

研究課題名: 超強酸性土壌におけるアルミニウム化学種の同定

(カテコール関連物質を放出する植物の導入が周辺の植物ならびに土壌環境に及ぼす影響解明)

予算区分: 文科省: 科研費[基盤研究 A]

研究期間: 2005年度(2003~2005年度)

研究担当者: 平館俊太郎, 山口紀子

発表論文等:

- 1) Yamaguchi et al., Soil Sci. Plant Nutr., 49(4), 551-556 (2003)
- 2) Hiradate and Yamaguchi, J. Inorg. Biochem., 97(1), 26-31 (2003)
- 3) Yamaguchi et al., Soil Sci. Soc. Am. J., 68(6), 1838-1843 (2004)

[成果情報名] 高感度・高精度・迅速なシアナミド定量法

[要約] シアナミド ($\text{H}_2\text{NC}\equiv\text{N}$) をガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) で高感度に定量できる (検出限界: 約 1ng)。試料の前処理の段階で内部標準物質として($^{15}\text{N}_2$)シアナミドを添加し同位体希釈法により定量すれば、より信頼性の高いデータとなる。

[担当研究単位] 生物環境安全部 植生研究グループ 化学生態ユニット

[分類] 技術

[背景・ねらい]

シアナミドは、1898 年に初めてドイツで人工合成された含窒素化合物であり、植物生育調節作用を持ちつつも、土壤中では微生物によってアンモニアへ変換され肥料としても働く多機能性の農業用薬剤である。近年、著者らはシアナミドがヘアリーベッチ体内で生合成され植物生育阻害作用を示すことを明らかにし(Kamo et al., 2003)、さらにその存在量や分布あるいは植物体中における生合成経路の解明研究を継続している。しかし、シアナミドは不安定かつ低沸点化合物であるため、試料の前処理段階 (精製操作) において消失する可能性があり、従来のシアナミド分析法では問題点が多い。そこで、高感度・高精度・簡便・迅速なシアナミド定量法を開発する。

[成果の内容・特徴]

- 1 . GC/MS に装着する分離用カラムとしてアミン化合物分析用キャピラリーカラムを選択することによって、シアナミドを定量分析可能なシグナルとして検出できる (図 1A)。
- 2 . 本分析法による検出限界は約 1ng である。また検量線は、20ng / 2 μL 以上の高濃度分析では直線回帰モデルが、1 ~ 20ng / 2 μL の低濃度分析では対数モデルがよく適合する。
- 3 . 試料の前処理段階においてシアナミドが消失しデータの信頼性が低下する問題点は、前処理段階で内部標準物質として($^{15}\text{N}_2$)シアナミドを加え、同位体希釈法によって定量を行うことで解決できる。すなわち、この内部標準物質を m/z 44 (図 1C)、天然型の($^{14}\text{N}_2$)シアナミドを m/z 42 (図 1B) のマスクロマトグラムのシグナルとしてそれを特異的に検出し、これらのシグナル強度比(m/z 42)/(m/z 44)である同位体希釈率からシアナミド含量の定量値を算出できる。
- 4 . ヘアリーベッチ茎葉部に含まれるシアナミドを抽出するためには、アセトンあるいはエタノールを用いるのが効率的である。この抽出物の精製操作は、順相固相抽出カラム (固相:シリカゲル、抽出溶媒:ヘキサン - アセトン系) のみで十分である。
- 5 . ヘアリーベッチ茎葉部の抽出物中に含まれるシアナミドを、3段階の($^{15}\text{N}_2$)シアナミド添加量で精製操作および定量分析を行うと、いずれの添加量でも同等の定量値が得られる (表 1)。この値は、従来法の中で最も高感度かつ信頼性の高い方法 (プレカラム誘導体化 + HPLC 法) で得られる値とも同等であるため、本法は従来法とも整合性が取れ、かつ回収率が低くても信頼できる有効な分析法と言える。

[成果の活用面・留意点]

- 1 . 本分析法は、シアナミド濃度が極めて低い場合や、夾雑物が多く前処理 (精製操作) が必要な場合に特に有効である。
- 2 . 高い信頼性を確保するためには、(m/z 42)/(m/z 44) 値が 0.1 ~ 5 の範囲内で定量分析を行う必要がある。
- 3 . 市販の($^{15}\text{N}_2$)シアナミドは高価である (50%水溶液 1g で 68 万円)。

[具体的データ]

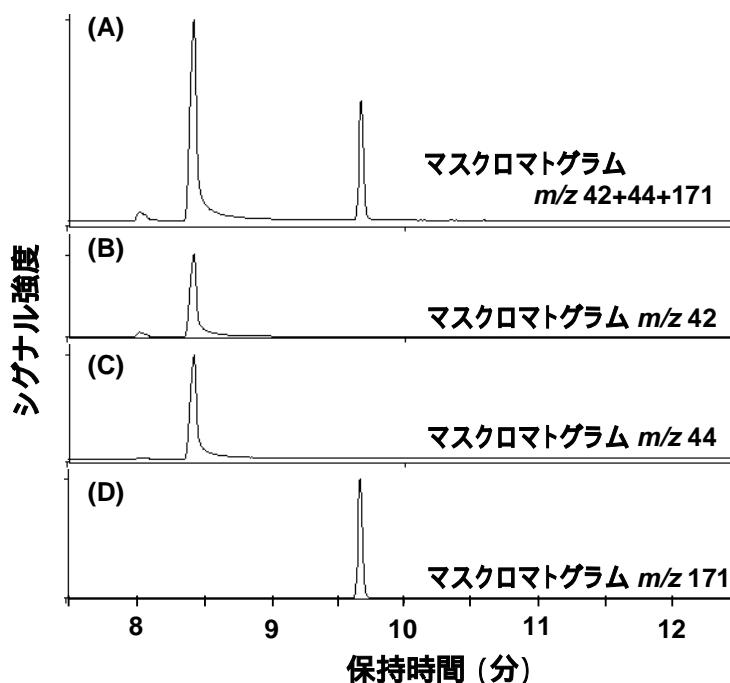


図1 $(^{14}\text{N}_2)$ シアナミド + $(^{15}\text{N}_2)$ シアナミド + 補正用標準物質(*m*-トリフルオロメチルベンゾニトリル)混合溶液のGC/MSクロマトグラム

分析カラム: CP-Sil 8 CB for amines (0.25-mm I.D., 30-m length, 0.25- μm thickness; GL Sciences, Tokyo, Japan)

注入量: $(^{14}\text{N}_2)$ シアナミド: 20.0 ng, $(^{15}\text{N}_2)$ シアナミド: 23.5 ng, *m*-トリフルオロメチルベンゾニトリル: 20.0 ng

天然型の $(^{14}\text{N}_2)$ シアナミドは *m/z* 42, 内部標準物質である $(^{15}\text{N}_2)$ シアナミドは *m/z* 44, *m*-トリフルオロメチルベンゾニトリルは *m/z* 171にて特異的に検出される

表1 ヘアリーベッチ茎葉部抽出物中のシアナミドの定量分析結果

分析法	内部標準物質添加量 ^c (mg kg ⁻¹ fresh weight)	回収率 (%)	シアナミド含量 ^d (mg kg ⁻¹ fresh weight)
本法 ^a	29.4	104.1	100 ± 7
	88.2	92.6	103 ± 2
	264	102.0	100 ± 3
従来法 ^b	50.0	103.2	102 ± 7

^a順相固相抽出(シリカゲル, ヘキサン - アセトン系)により精製。^b分配固相抽出(ケイソウ土, 水 - 酢酸エチル系) + 逆相固相抽出(C18, 水 - メタノール系) + 誘導体化(4-cyanimido-1,2-naphthoquinone) + 逆相固相抽出(C18, 水 - メタノール系)により精製。^c本法による内部標準物質には $(^{15}\text{N}_2)$ シアナミドを, 従来法による内部標準物質には $(^{14}\text{N}_2)$ シアナミドを用いた。^d値は平均 ± 標準偏差(n=3)。

[その他]

研究課題名: ヘアリーベッチ等アレロパシー活性の高い被覆植物を利用した雑草防除技術の開発

(カテコール関連物質を放出する植物の導入が周辺の植物ならびに土壤環境に及ぼす影響解明)

予算区分: 委託プロ[生物機能], 運営費交付金

研究期間: 2005 年度(2001 ~ 2008 年度)

研究担当者: 平館俊太郎, 藤井義晴, 加茂綱嗣(信州大農), 荒谷博
発表論文等:

- 1) Hiradate et al., J. Chromatogr., A, 1098(1-2), 138-143 (2005)

[成果情報名] アオコの増殖抑制植物を検定する「リーフディスク法」の開発

[要約] アオコを構成するラン藻類を用いて、アオコの増殖を阻害する作用を生物検定するための手法を開発した。この手法を用いて、ため池周辺に生育する50種の樹木落葉を検定した結果、アカメガシワ、ユキヤナギの落葉は増殖阻害作用が強い。

[担当研究単位] 生物環境安全部 植生研究グループ 化学生態ユニット

[分類] 技術

[背景・ねらい]

ため池や湖で異常増殖したラン藻類はアオコを形成し、異臭発生や浄水処理時の濾過障害、有毒物質ミクロキスチンの生成という問題を引き起こしている。これまでに水生植物を用いたアオコの抑制が検討されているが、特定外来生物被害防止法の施行に伴い、外来水生植物の導入には慎重な検討が必要である。一方、ため池周辺に樹木が多いほどアオコの発生が少ない現象が観察されており、樹木落葉によるアオコの発生抑制が示唆されている。そこで、ため池周辺に生育する植物の葉に含まれる成分によるラン藻類の増殖阻害作用を調べる手法の開発を試み、この手法を用いて有効な植物を検索する。

[成果の内容・特徴]

1. 抗生物質の検定に用いられる「ペーパーディスク法」を参考にして、ディスクパンチで落葉を打ち抜きリーフディスクを作成し、これを一定濃度のアオコを含む培地上にのせ、数日間培養した後に、アオコの生育阻止円の直径を測定する手法を開発した。本法は落葉をそのままリーフディスクとして用いるもので、これに相当する既存手法はなく、検体から溶媒で抽出した物質の活性を吸光度で測定する既存手法よりも簡便であり、かつ、現場での活性を反映していると考えられる。
2. 検定材料とするアオコとして、*Microcystis*, *Anabena*等のラン藻類のいろいろな株を検定した結果、再現性と感度が良いこと、ミクロキスチンを生産することから、国立環境研で純化されたNIES-88株を採用した。供試するリーフディスクのサイズと滅菌処理が阻害作用活性に及ぼす影響を検討した結果、直径5mmで打ち抜き、UV照射により表面を滅菌する方法により、明確な生育阻止円が得られることが判明したので、この方法を検定法として採用した。開発した手法を図1に示す。本手法は一次検索手法として有用であり、「リーフディスク法」と名付ける。
3. リーフディスク法により、兵庫県のため池周辺に生育する約50種の樹木の落葉がアオコの生育に及ぼす影響を生育阻止円の大きさから評価した結果、ユキヤナギ(*Spiraea thunbergii* Sieb. ex Bl.)、ヤマウルシ(*Rhus trichocarpa* Miq.)、アベマキ(*Quercus variabilis* Blume)、アカメガシワ(*Mallotus japonicus* (Thunb.) Muell. Arg.)、ナツハゼ(*Vaccinium oldhami* Miq.)等の活性が強い(図2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 本法で供試するリーフディスクは表面積を一定にしたため、体積と重量が植物種によって異なる。しかしこの差よりも、含まれる物質の違いが検定結果に大きく反映するので、一次選抜には問題がない。
2. 今後、選抜された植物を用いた、ため池等でのアオコ抑制効果の検証が必要である。

[具体的データ]

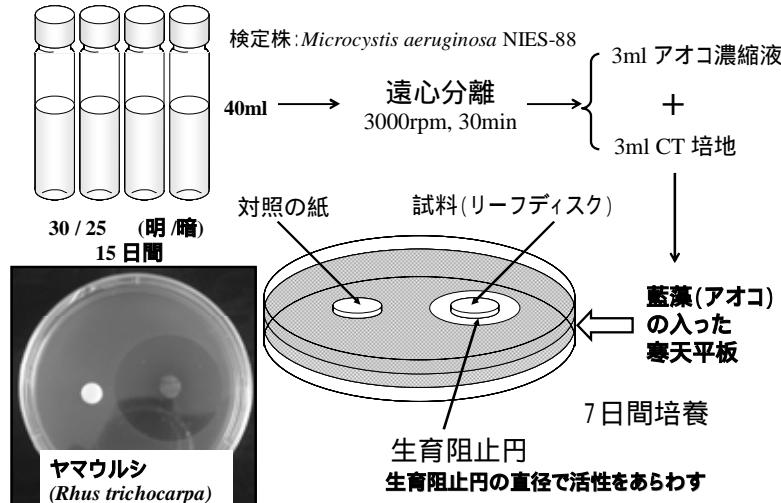


図1 リーフディスク法による操作要領と活性の強い植物の写真

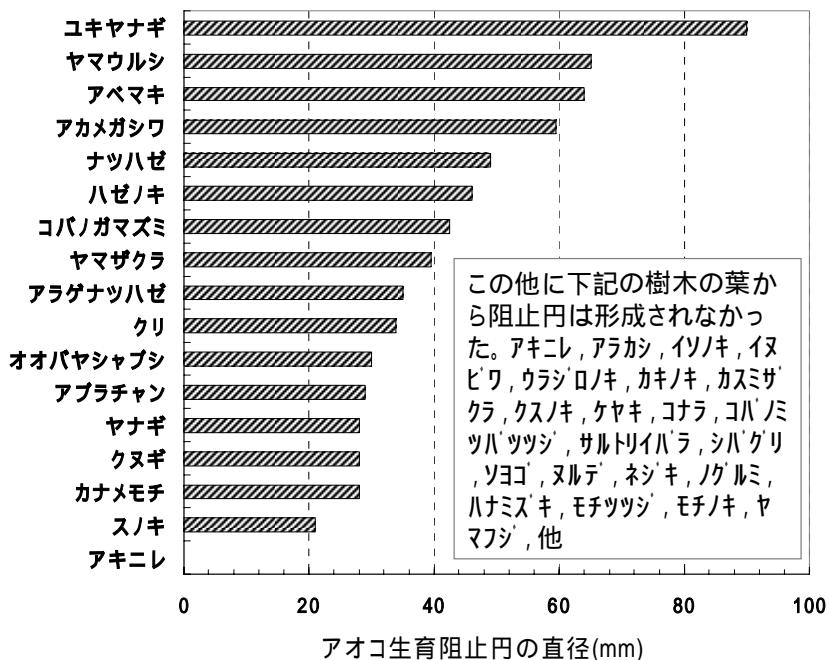


図2 兵庫県のため池周辺から採取した樹木落葉によるアオコ増殖抑制効果のリーフディスク法による検定

[その他]

研究課題名：水生植物・森林起源物質の植物プランクトンへの他感作用の検討
(カテコール関連物質を放出する植物の導入が周辺の植物ならびに土壤環境に及ぼす影響解明)

予算区分：環境省受託〔ため池機能〕

研究期間：2005年度(2004~2006年度)

研究担当者：藤井義晴、平館俊太郎、津田久美子(神戸大)、高村典子(国立環境研)

発表論文等：

- 1) Tsuda et al., J. Aquatic Plant Management, 43, 43-46 (2005)
- 2) 藤井ら, 雑草研究, 50(別), 88-89 (2005)
- 3) 藤井ら, 国環研報告, 183, 98-101 (2004)

[成果情報名] 生物多様性保全のための景観・植生調査解析システム

[要約] 農業生態系における植生分布や多様な生物生息地の変動を地域～国土スケールで効果的にモニタリングするため、客観的に類型化された調査単位および統一的な解析手法からなる景観・植生調査解析システムを開発した。

[担当研究単位] 生物環境安全部 植生研究グループ 景観生態ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

生物多様性保全に対する関心が高まるなか、農耕地を中心とした二次的自然環境に生息する生物についても、その動態を全国スケールで把握し、環境変化に伴う影響を予測する手法の開発が求められている。そこで、わが国農業生態系における景観・植生の変動に関する調査研究を体系的・効果的に蓄積・利用する調査・解析システムを構築するとともに、その活用法を提示した。

[成果の内容・特徴]

1. 3次メッシュ（約 1km × 1km）を単位として、気象、土壤、地質、地形、植生、交通立地の因子に関わる数値地図情報を多変量解析の手法により統計的に処理し、全国農業生態系を 46 クラスに区分する。調査・解析はこれらのクラス単位で行う（図 1）。
2. 各クラスについて、それぞれモニタリング地区（3次メッシュ）を統計的に抽出し、放棄水田、畦畔、二次林、水田脇植生を対象に 1m × 1m ~ 10m × 10m の方形区を設置し、種組成、種ごとの高さ及び被度、位置情報等を中心とした植生データを収集する。また、空中写真の判読等により土地被覆状況に関する GIS データを作成する。
3. 利根川中下流域を代表する農業生態系クラスを事例として、上記の方法により得られた植生データをもとに、統計的な手法を用いて群落タイプを類型化した（図 2）。この結果は、別途実施した詳細な植生調査の結果とほぼ一致し、指標種もおおむね共通していることが確認された。以上から、本調査・解析システムで得られた植生情報は、当該クラスの植生分布状況を精度よく示していると考えられる。
4. 本調査・解析システムで得られた土地被覆データを利用することにより、チョウ類をはじめとする多様な生物の生息環境と関連の深い景観構造として、森林と水田の境界線長を算出し、土地利用タイプとの関係をモデル化することができる。さらに、このモデルを国土数値情報に適用することにより、生物生息ポテンシャル図を作成し、生物生息環境の変動を把握することが可能である（図 3）。

[成果の活用面・留意点]

1. 本景観・植生調査情報システムは、地域スケールから国土スケールに至る生物相の長期モニタリングのフレームとして活用できる。具体的なデータフォーマットやデータ管理の方法等については、実用化に向けての検討をさらに進める必要がある。
2. 植生変動の模式図を用いることにより、休耕田・放棄水田に出現する植生タイプが管理形態の変化に伴ってどのように変化するかを予測することが可能である。

[具体的データ]

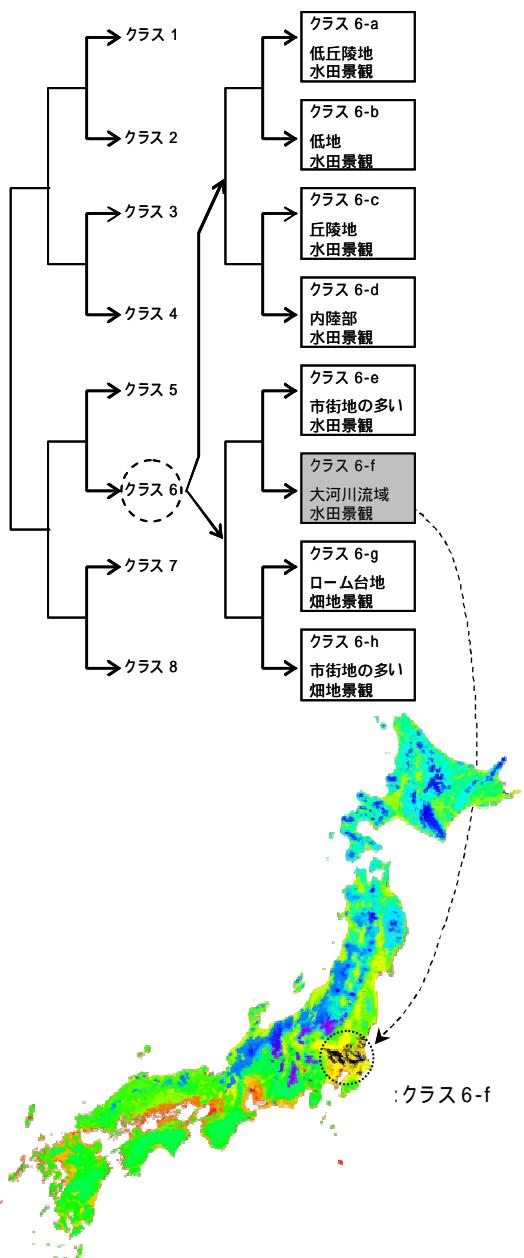


図1 農業生態系の区分模式図

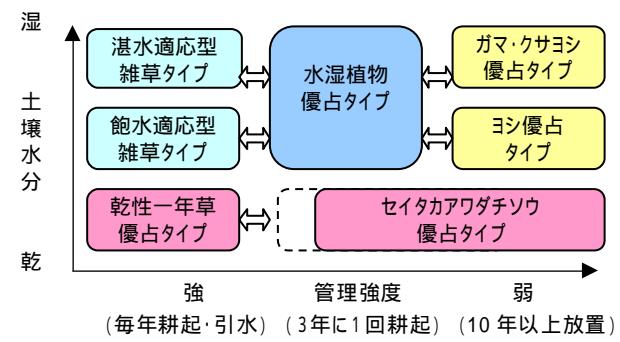


図2 休耕田・放棄水田植生の群落タイプの推移と立地条件・管理履歴との対応模式図

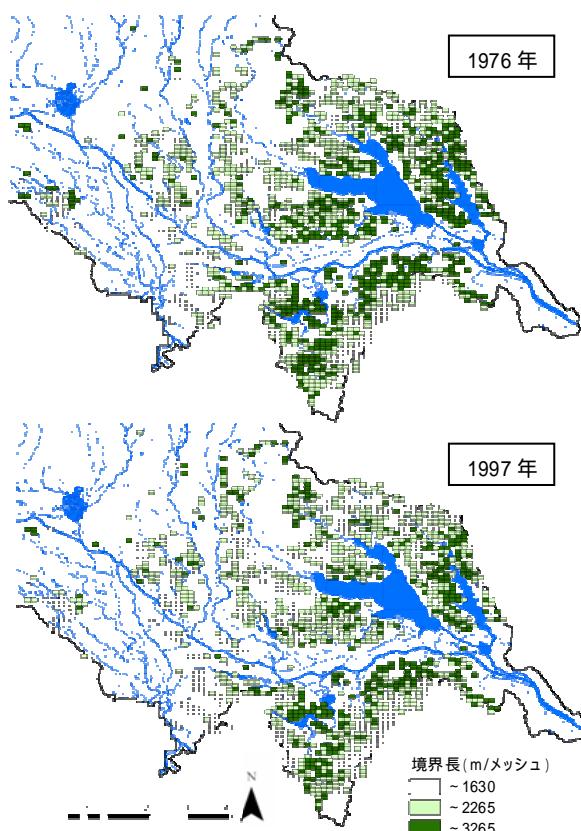


図3 利根川流域台地谷津田景観域における森林 - 水田の境界長を指標とした生物生息ポテンシャルの推移

[その他]

研究課題名：農業生態系における農地管理形態の変化に伴う農地及び周辺植生の変動予測
(農地管理形態の変化に伴う農地及び周辺植生の変動予測)

予算区分：運営費交付金，環境研究 [自然共生]

研究期間：2005年度(2001~2005年度)

研究担当者：楠本良延，大黒俊哉，井手任

発表論文等：

- 井手ほか, インベントリー, 4, 20-23 (2005)
- 楠本ほか, 農村計画論文集, 7, 7-12 (2005)
- 大黒ほか, ランドスケープ研究, 66, 599-602 (2003)

B . 地球規模での環境変化と農業生態系との 相互作用の解明

[成果情報名] 大気 CO₂ 濃度の上昇と群落微気象要因を考慮したイネの穂温推定モデル

[要約] 開放系大気 CO₂ 増加 (FACE) 実験における微気象観測結果を解析し, 熱収支に基づくイネの穂温推定モデルを開発した。本モデルは, 温暖化や大気 CO₂ 濃度上昇時に懸念される開花期高温不穏や登熟障害の発生予測に役立つ。

[担当研究単位] 地球環境部 気象研究グループ 生態系影響ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

大気 CO₂ 濃度の上昇は, イネの成長促進と增收効果を持つ一方, 気孔開度の減少, 蒸散の抑制, 群落温度の上昇を通じて, 温暖化や高温地域で問題となる開花期不穏を激化させる可能性がある。高温, 高 CO₂ 環境下における不穏発生を予測するためには, 的確な穂温の予測が必要であるが, 穂温は水田の微気象条件に強く依存するため, 単純に気温から推定することはできない。そこで, 開放系大気 CO₂ 増加 (FACE) 実験水田で微気象観測を行い, 穂を取り巻く微気象環境が穂温に影響を及ぼすプロセス (図 1) を考慮した穂温推定モデルを開発し, 大気 CO₂ 濃度上昇に伴う穂温の上昇程度を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 中国江蘇省無錫の水田 FACE 実験圃場 (イネ品種: 武香粳 14 号) の[現 CO₂ 濃度区]と[高 CO₂ 濃度区 (= 現 CO₂ 濃度 + 200ppm)]で, 出穂・開花期に微気象観測を行った。高 CO₂ 濃度による気孔開度の減少は個葉の蒸散を抑制し, 潜熱として葉面の熱が奪われる冷却効果を減らすため, [高 CO₂ 濃度区]の葉温は[現 CO₂ 濃度区]に比べて 1~2 度高かった (図 2)。また, 群落内の気温は, [高 CO₂ 濃度区]の方が 0.5~1 度高く, 相対湿度は 5~8% 低かった。
2. 穂は表面に気孔がなく, 表皮を通して蒸散しているため, 高 CO₂ 濃度の穂の蒸散速度への直接的な影響はなかった。両 CO₂ 濃度区とも, 穂の蒸散速度は開花直後に高く, 日数が経つにつれて減少する傾向を示した。
3. FACE 実験水田の微気象変化と穂の蒸散速度の測定データを用いて, 穂の温度を推定する熱収支モデルを開発した。高 CO₂ 濃度による穂温の上昇は 0.5~1 度 (図 3a) と, 高 CO₂ 濃度による微気象変化のみで高温不穏を助長し得ることがわかった。また, 高 CO₂ 濃度は, 穂温を上げると同時に, 群落内の湿度を下げるため (図 2) 穂の蒸散 (脱水) を促進した (図 3b)。
4. 高 CO₂ 濃度による穂温の上昇と蒸散の増加は, 開花期のみならず登熟期間全体にもわたることから, 高 CO₂ 濃度は開花期高温不穏だけでなく, 未熟粒の増加といったコメの品質低下にも影響する可能性がある。

[成果の活用面・留意点]

1. 温暖化・CO₂ 濃度上昇に伴う, イネの高温不穏の発生予測や, 近年頻発する高温登熟障害の現象解明, 高温耐性形質の探索に活用できる。
2. 穂温推定には, 全天日射量・下向き長波放射量・気温・湿度・風速などの気象要素と品種固有の蒸散特性のデータが必要である。

[具体的データ]

図1 大気CO₂濃度上昇による水田群落の微気象の変化が、穂の温度を変化させるプロセス

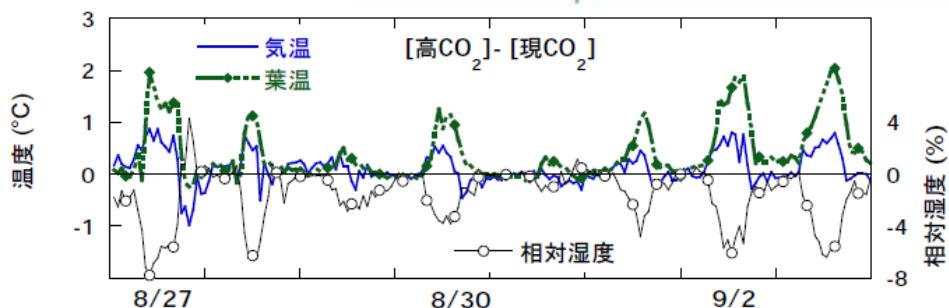
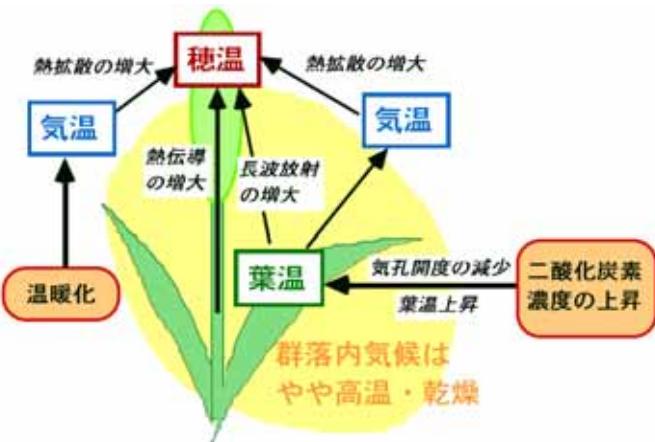


図2 高CO₂濃度(FACE)による群落内の微気象の変化
(両区の較差で表示:[高CO₂濃度区] - [現CO₂濃度区])

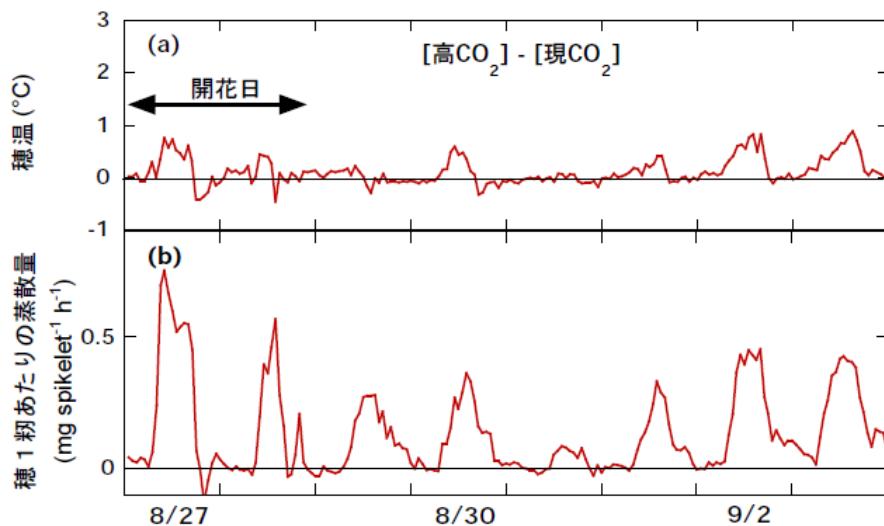


図3 穂温推定モデルで計算された、高CO₂濃度による(a)穂温と(b)穂の蒸散量の変化
(両区の較差で表示:[高CO₂濃度区] - [現CO₂濃度区])

[その他]

研究課題名：大気CO₂の増加が農作物の高温ストレスに及ぼす影響
(二酸化炭素の濃度上昇がアジアのコメ生産性に及ぼす影響のモデル化)
予算区分：環境研究[地球温暖化]
研究期間：2005年度(2002~2005年度)
研究担当者：吉本真由美、大上博基(愛媛大)、長谷川利拡、小林和彦(東京大)
発表論文等：

- 1) Yoshimoto et al., J. Agric. Meteorol., 60(5), 597-600 (2005)
- 2) Oue et al., Phyton, 45(4), 117-124 (2005)

[成果情報名] 農耕地からの亜酸化窒素の排出係数は現在の IPCC デフォルト値よりも低い

[要約] 世界の農耕地における亜酸化窒素発生量のデータベースを作成し解析した結果から、水田からの直接発生および農耕地からの溶脱による間接発生の排出係数は、それぞれ 0.31% および 1.24% と推定される。

[担当研究単位] 地球環境部 温室効果ガスチーム

[分類] 行政

[背景・ねらい]

世界各国において温室効果ガス排出量の算定に用いられている、気候変動に関する政府間パネル (IPCC) の国別温室効果ガスインベントリーガイドライン (IPCC ガイドライン) の改訂が 2006 年に予定されている。そのため、農耕地からの温室効果ガスの排出係数の見直しが急務となっている。この IPCC ガイドラインの算定方法では、国別の温室効果ガス排出量算定において各国のデータの準備状況に応じて 3 段階の方法が提案されているが、なかでもデータが十分にない場合 (Tier 1) にも適用できる基本の排出係数 (デフォルト値) は世界各国の温室効果ガス排出量の算定に用いられており、この数値を最新のデータを加味して改訂することは非常に重要である。そこで、これらのデフォルト値の改訂に寄与することを目的として、以下の二つの排出係数について解析を行う。(1) 現在の算定方法では、水田から直接発生する亜酸化窒素 (N_2O) の排出係数 (EF_{1-RICE}) は畑や草地の排出係数 (EF_1) と同じとされているが、湛水条件での N_2O の発生量は畑条件とは大きく異なると考えられることから、新たな見直し案を提示する。(2) また、農耕地から溶脱により間接発生する N_2O については現在の排出係数 (EF_5) が過大評価である可能性が高いことから、新たな見直し案を提示する。

[成果の内容・特徴]

1. 世界の水田から直接発生する N_2O の実測データ (29 地点, 149 測定) を収集した。これらのデータのうち、化学肥料または有機物肥料を施用した水田について解析した結果、常時湛水田よりも中干しあり水田のほうが N_2O 発生量は大きかった。しかし、このうち排出係数が計算可能なデータについて解析した結果、 N_2O 排出係数には水管理の違いによる統計的な差はみられず、排出係数 (EF_{1-RICE}) の平均値 (\pm 標準偏差) は施肥窒素量の 0.31 (± 0.31) % であり、現在の IPCC のデフォルト値 (1.25%) よりも著しく低かった (表 1)。
2. 世界の農耕地から溶脱により間接発生する N_2O 発生量のデータベースを作成し解析した結果、農耕地から系外に排出された窒素が地下水や表面流去水において N_2O を排出する際の排出係数 (EF_{5g}) は窒素溶脱量の 0.24% (95% 信頼区間: 0.18% - 0.29%) と推定され、現在の IPCC の推定値 (1.5%) よりも著しく低かった (図 1)。この値に、河川および沿岸域における既存の排出係数 (それぞれ、 $EF_{5r} = 0.75\%$ および $EF_{5e} = 0.25\%$) を加えることから、溶脱による N_2O 間接発生の排出係数 (EF_5) は 1.24% と見積もられる。

[成果の活用面・留意点]

1. 本情報は、IPCC ガイドラインにおける排出係数デフォルト値の改訂に寄与するものである。
2. 今回推定した排出係数は現在利用可能なデータを網羅して推定したものであるが、将来実測データが充実してきた場合にはさらなる改訂が必要である。

[具体的データ]

表1 化学肥料または有機物肥料を施用した水田からの耕作期間における N_2O 排出係数

水管理	平均	標準偏差	中央値	データ数	最大値	最小値
<u>N_2O-N 排出係数[†] (%)</u>						
常時湛水	0.22 a*	0.24	0.10	16	0.69	0.003
中干しあり	0.37 a	0.35	0.28	23	1.16	0.02
すべての水管理	0.31	0.31	0.16	39	1.16	0.003

[†] 窒素施用区の N_2O 発生量から窒素無施用区の N_2O 発生量を差し引いた場合の、施用窒素量あたりの N_2O -N 発生率を表す。

* 対数変換後、Tukey 法により検定を行った結果、 $P < 0.05$ で有意差はみられなかった。

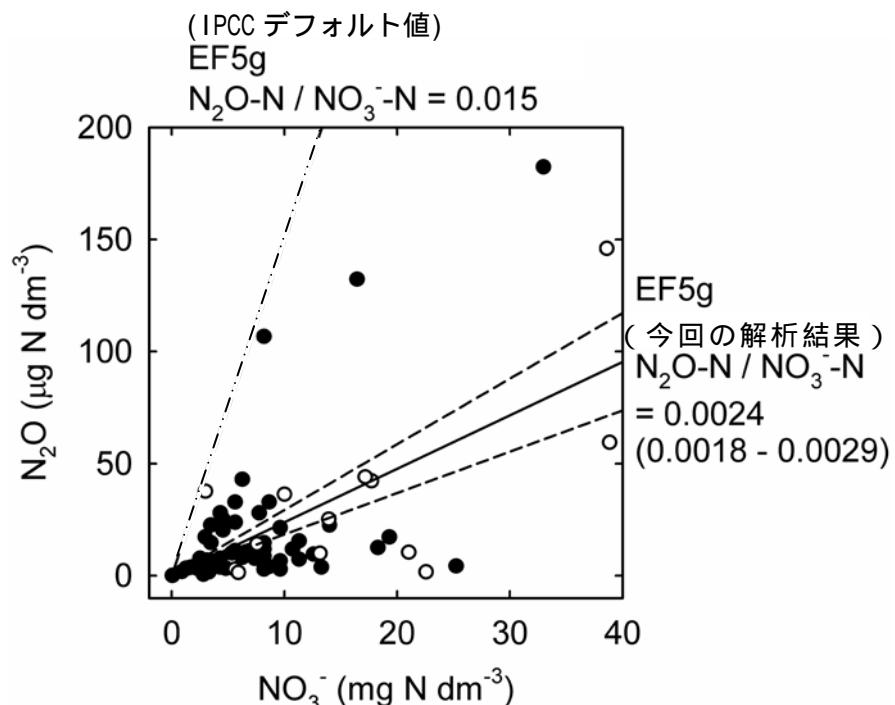


図1 農耕地に由来する排水中の硝酸態窒素濃度と N_2O 濃度との関係

黒丸：各地点における実測値を示す（畑および草地：53 地点）。白丸：一地点で多数の実測値がある場合にはその平均値を示す（畑および草地 12 地点、水田 1 地点）。回帰直線とその 95% 信頼区間を実線と点線で示している。上方の二点鎖線は IPCC の現在のデフォルト値を示す。

[その他]

研究課題名： 農耕地における土地利用と肥培管理に伴う温室効果ガス等の発生要因の解明と発生抑制技術の開発、わが国とアジア諸国の農耕地における CH_4 , N_2O ソース制御技術の開発と広域評価

（農地の利用形態と温室効果ガス等の発生要因の関係解明および発生抑制技術の開発）

予算区分： 運営費交付金、環境省：地球環境 [温室効果ガス]

研究期間： 2005 年度 (2003 ~ 2007 年度)

研究担当者： 秋山博子、澤本卓治（酪農学園大学）、中島泰弘、須藤重人、西村誠一、八木一行
発表論文等：

1) Akiyama et al., Global Biogeochem. Cycles, 19, GB1005, doi:10.1029/2004GB002378 (2005)

2) Sawamoto et al., Geophys. Res. Lett., 32, L03403, doi:10.1029/2004GL021625 (2005)

[成果情報名] 積雪地域におけるスギ花粉の飛散開始日の推定

[要約] 積雪地域である山形市を対象に月降雪深を考慮したスギ花粉の飛散開始日の推定手法を開発した。同手法を用いることにより、従来の月平均気温のみからの推定より精度が向上した。地球温暖化時の予測気候値を入力すると、飛散開始日がかつてなく早まることが明らかになった。

[担当研究単位] 地球環境部 気象研究グループ 大気保全ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

最近、保全・管理が重要視されている里山の構成要素の一つであるスギ林も農業生態系の構成要素であり、そのスギ花粉による花粉症は、現在、大きな社会問題となっている。スギ花粉の飛散開始日は、花粉症予防薬の投与開始時期に関して非常に重要な情報である。積雪地域では、多雪年に飛散開始日の推定精度が悪いことが知られているが、雪を考慮した飛散開始日の推定手法は見当たらない。さらに、地球温暖化にともない飛散開始日が早期化すると予想されているが、具体的に予測した研究も見当たらない。本研究では、月平均気温と月降雪深を用いる統計的手法によって、飛散開始日を推定する手法を開発した。温暖化時の予測気候値を用いて、飛散開始日がいつ頃、どの程度早まるかを推定した。

[成果の内容・特徴]

1. スギ花粉の飛散開始日は、1983年から1998年までの山形県衛生研究所での観測データを使用した。飛散開始日は、ダーラムサンプラーで捕集した花粉が1個/cm²以上の日が連続して2日以上続いたか、または2個/cm²以上飛散した日である。気象データは、気象庁山形地方気象台の同期間の月平均気温、月降雪深を使用した(図1)。1995年と1996年では、1,2月平均気温は同じ-0.3だが、飛散開始日は1996年が14日遅い。この遅れは平均気温のみでは説明できない。
2. 山形市におけるスギ花粉の飛散開始日の推定式を重回帰分析によって得た。
$$Y = -5.65X_1 + 0.13X_2 + 55.46$$
 (ただし Y: スギ花粉の飛散開始日(Day of Year:DOY),
 X_1 : 1, 2月平均気温(), X_2 : 2月降雪深(cm))
3. 従来用いられていた1, 2月平均気温のみを用いた推定に対し、2月降雪深も説明変数に加えることにより推定精度が向上し、5日以内の誤差で推定が可能になった(図2)。本研究では、積雪深(地表面に堆積した雪の量)ではなく、樹木の着雪量(断熱作用)への影響が大きい月降雪深(降り積もった雪の深さの月積算値)を用いた。
4. 気象庁気候統一シナリオ第2版(SRES排出シナリオA2条件)を農環研にてメッシュ展開した気候値を用いて、温暖化時の山形市でのスギ花粉の飛散開始日を予測した。飛散開始日は、温暖化が進行するにつれて早まった。現在の気候値による飛散開始日の推定日は、DOY71日目だが、100年後の気候での推定日はDOY49日目と現在より3週間以上早まると予測された(図3)。

[成果の活用面・留意点]

1. 推定式は山形市のみを対象としているが、スギ花粉の飛散開始日の統計があれば、他の積雪地域でも本推定手法は活用可能である。他の地域でも気温上昇、降雪深の減少は共通して予測されていることから、同様に飛散開始日の早まりが予想される。
2. 将来予測には二酸化炭素濃度の上昇による植物生理的な変化、植林、伐採などスギの質的・量的な変化は考慮していない。
3. SRES排出シナリオA2条件とは、緩やかに世界経済が成長し、地域的経済発展が中心となる多元的な将来を想定している。

[具体的データ]

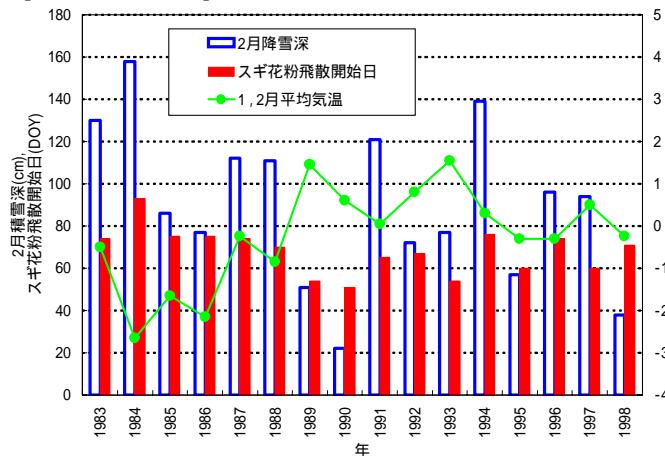


図1 使用したデータ(気温, 降雪深およびスギ花粉飛散開始日, 飛散開始日は1月1日からの日数で表示)

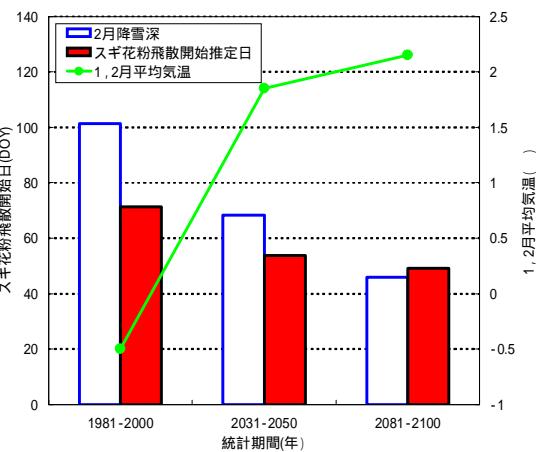


図3 山形市におけるスギ花粉の飛散開始推定日の気候的推移

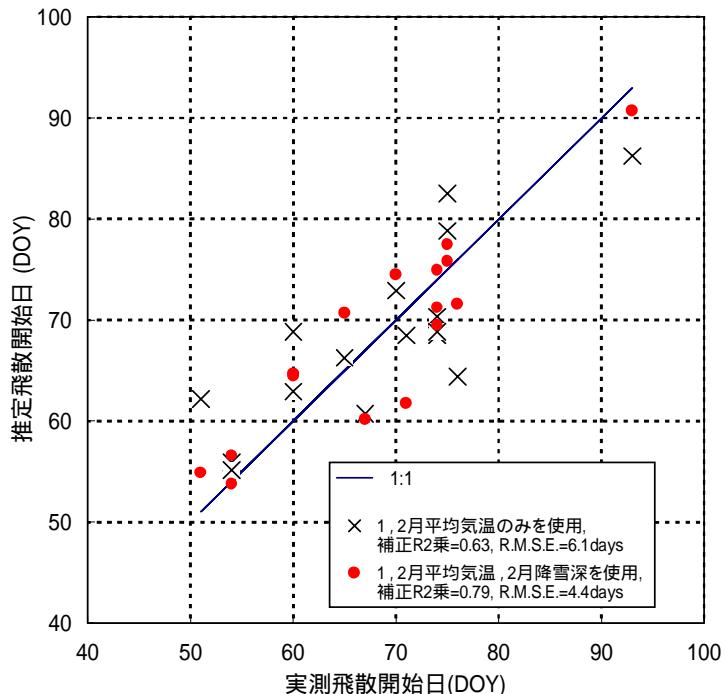


図2 1,2月平均気温のみを用いた推定手法と1,2月平均気温と2月降雪深を用いた推定手法の比較

[その他]

研究課題名：農業生態系における大気質の放出・拡散過程のモデル化と濃度評価手法の開発

(農業生態系における炭化水素, 花粉, ダスト等大気質の放出・拡散過程の解明)

予算区分：運営費交付金

研究期間：2005年度(2001~2005年度)

研究担当者：井上聰, 川島茂人, 杜明遠, 米村正一郎

発表論文等：

- 1) Inoue, et al., Global Change Biology, 8, 1165-1168 (2002)

[成果情報名] 食料生産・消費拡大がもたらす東・東南アジアの水質変動の予測

[要約] 東・東南アジアでは、人口増加と急激な経済成長に伴う肉消費の拡大により、食料生産・消費に起因する環境への窒素負荷が急増し、中国東部で深刻な水質の悪化が予測される。

[担当研究単位] 地球環境部 生態システム研究グループ 物質循環ユニット、
地球環境部 食料生産予測チーム

[分類] 学術

[背景・ねらい]

東・東南アジアでは、最近の40年間に窒素肥料の使用量が約20倍に増加した。窒素肥料は農作物の増収に大きく寄与したが、一部の地域では過剰投入により、深刻な地下水汚染や湖の富栄養化が報告されている。そこで食料生産・消費による窒素の負荷、及びその水質への影響を広域的に推定するモデルを作成し、今後の人団増加と経済発展のもとでの環境の変化を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. FAO や各国の統計データに基づいて、食料需給による窒素の負荷量と地下水、河川水の窒素濃度を大陸スケールで推定するモデルを作成した（図1）。
2. 東・東南アジアにおける単位陸地面積当たりの平均窒素負荷は、1961年には 1.0 t/km^2 であり、日本と韓国以外での負荷はほとんど自然生態系の窒素固定に起因している。1980年以降、多くの国で負荷が増加し、2000年の平均負荷量は 3.6 t/km^2 である（図2）。
3. 経済成長に伴って、各国とも一人当たりの肉消費量は著しく増大し（図3）、この地域での肉生産量は510万トン（1961年）から7700万トン（2000年）に増加している。肉類消費量の増大はその数倍～十数倍の飼料の生産・消費を意味し、飼料作物の生産が窒素負荷の増加の一つの原因となっている。
4. 飼料作物を含む作物生産による窒素負荷の寄与が最も大きく、作物生産に起因する耕地面積当たりの平均窒素負荷量は、 0.8 t/km^2 （1961年）、 6.7 t/km^2 （1980年）、 8.2 t/km^2 （2000年）と推定される。
5. 国連による人口変化、OECDによる経済成長率に関するシナリオに基づいて、各国の将来の食料需要と食料生産による窒素負荷量の変化を見積もったところ、2020年の東アジア域での総窒素負荷量は、2000年の約1.43-1.68倍になると予測される。
6. 地下水の推定窒素濃度は経年的に増大し、2000年には中国の黄河、揚子江下流域の畑作地帯で特に高濃度を示す。中国の省および国毎の平均推定濃度は、中国や東南アジアにおける水質調査による地域平均濃度と比較的良く一致した。2020年には、中国東部、東北部の広い範囲でより水質が悪化することが予測される（図4）。

[成果の活用面・留意点]

1. モデルを用いた大陸規模の推定により、食料生産・消費に起因する窒素が水環境へ与える影響の大きさ、水質汚染が深刻な地域の特定、将来の変化の予測を統一的に行うことが可能となる。
2. 将来の窒素負荷および水質は、経済成長に加えて、食料貿易の動向、施肥効率の向上、エネルギー需要、環境対策などによって変化するので、各国の実証的なデータに基づいて隨時推定することが必要である。

[具体的データ]

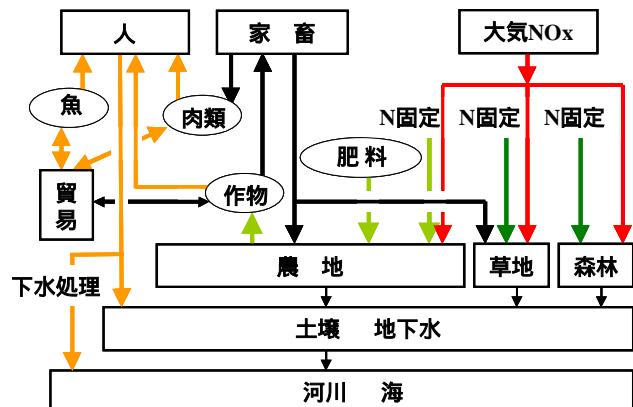


図1 東アジア窒素循環モデルのスキーム
 ↓作物生産 ↓人から ↓家畜から ↓自然N固定 ↓NOx

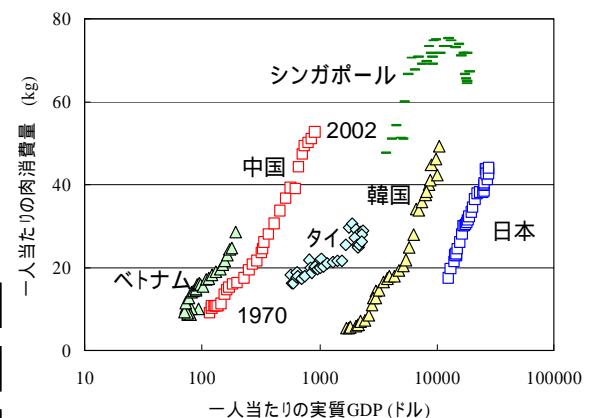


図3 一人当たり肉消費量とGDPとの関係 (1970-2002年)

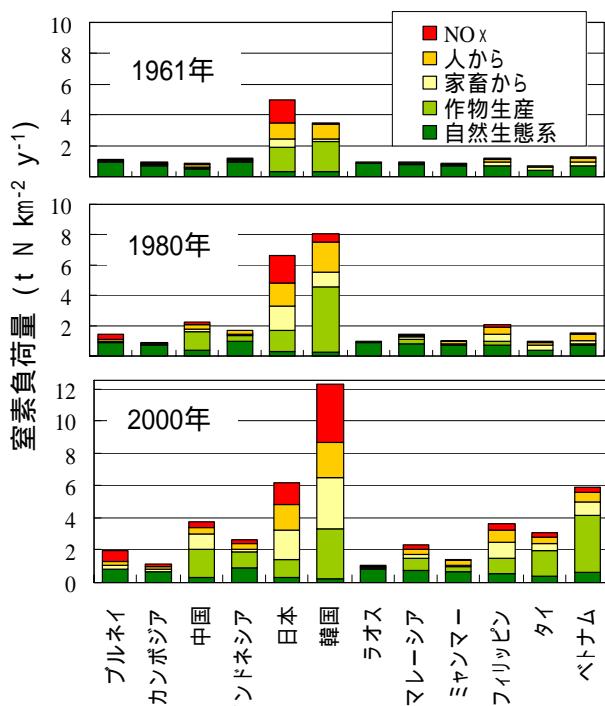


図2 国別窒素負荷量 (単位国土面積当たり)

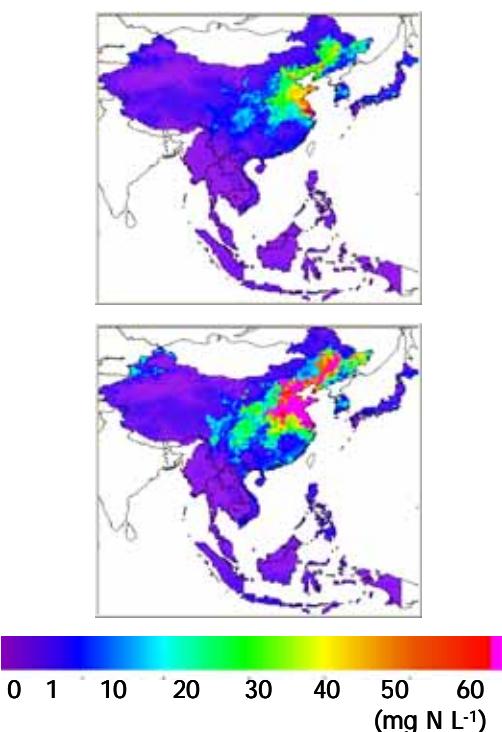


図4 窒素循環モデルに基づいた2000年と2020年の地下水窒素濃度分布 (2020年は高位の経済発展、中位の人口増加シナリオに基づいた予測)

[その他]

研究課題名：広域的な窒素負荷が生態系の物質循環に与える影響の評価手法の開発、酸性物質の負荷が東アジア集水域の生態系に与える影響の総合的評価に関する研究（窒素負荷の増大等による農業生態系の酸性化と窒素等の動態把握手法の開発）
 予算区分：運営費交付金、環境省・地球環境[酸性物質負荷]
 研究期間：2005年度（2001～2005年度）
 研究担当者：新藤純子、岡本勝男、川島博之（東京大学）
 発表論文等：

- 1) Shindo et al., Ecological Modelling 169/1-2, 197-212 (2003)
- 2) Shindo et al., Ecological Modelling 193, 703-720 (2006) 他

[成果情報名] 野生動物の生息域拡大のしにくさを評価する手法の開発

[要約] 土地利用の空間構造が野生動物の生息域変化に及ぼす影響を定量的に評価するため、生息域の拡大のしにくさを示すコスト距離という概念を用いた手法を開発した。本手法により、房総半島のニホンザルの生息域拡大過程では、畑や水田等の農耕地、ゴルフ場や草地等の開放的な空間や、住宅地が生息域の拡大を阻害することが分かる。

[担当研究単位] 地球環境部 生態システム研究グループ 生態管理ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

ニホンザルやシカ、クマ等の野生動物による農作物や人的被害が問題となっており、これらの被害の防除や軽減のために、野生動物と人間の活動域を分離するための環境管理が必要とされている。これまで、土地利用地目や植生に基づく生息地の評価は行われているが、その配置や面積、形状等の空間構造を考慮した評価手法は確立していない。本研究では、野生動物の生息域変化に及ぼす空間構造の影響を定量的に評価するため、生息域の拡大のしにくさを示すコスト距離という概念を用いた手法を開発する。また、房総半島におけるニホンザルの生息域変動を例として本手法を適用し、評価図を作製する。

[成果の内容・特徴]

1. コスト距離とは、土地利用毎に設定されるコスト値と実際の距離との積で示され、コスト値が大きいほど生息域拡大時に通過しにくい土地利用といえる。本研究では、生息域拡大の有無を目的変数、生息域が拡大したコスト距離を説明変数とするロジスティック回帰分析を行う。各土地利用のコスト値は、回帰分析の赤池情報量基準（AIC）が最小となるものを反復計算により求めた（図1）。AICは統計モデルの良さを評価する指標であり、小さいほど回帰分析の当てはまりがよいといえる。このコスト値を用いて累積コスト距離図を作製する。この際、コスト距離が遠い地点が生息域が拡大しにくく、近い地点が拡大しやすいといえる。
2. 本研究では、1970年代から1980年代半ばにかけての房総半島におけるニホンザルの生息域拡大過程に本手法を適用する。房総丘陵ニホンザル調査隊（1972）の報告から1970年代初頭における生息確認地点を、千葉県環境部自然保護課（1989）及び千葉県自然環境部・房総のサル管理調査会（1996, 1997, 1999, 2000）の報告から1980年代半ばにおける生息確認及び非生息確認地点を入力した。また、土地利用は環境省発行の自然環境GIS第二版に含まれる植生図を読み替えて作製した。
3. 本研究では目的変数を1980年代半ばの生息確認の有無、説明変数を1970年代初頭に生息が確認された地点から1980年代半ばに生息の有無いずれかが確認された地点までの最短累積コスト距離とする。単純距離にくらべ、コスト距離を用いた方がAICが小さく、回帰分析の当てはまりがよい。本手法により推定されたコスト値は、樹林地で低く、畑や水田等の農耕地、ゴルフ場や草地等の開放的な空間及び住宅地で高い傾向が認められる（表1）。また、分析対象地域の南部には直線距離が近いにもかかわらず生息域拡大が認められないが、この地域は水田や住宅地が密集し累積コスト距離が遠いためと考えられる。一方で、中央北部の様にコスト距離が近いにもかかわらず拡大が認められない場合もある。（図2）

[成果の活用面・留意点]

1. 本研究により作製された評価図は、ニホンザルの生息域変動の予測に活用することが可能である。また本手法は、他の野生動物の生息域拡大のモデル化にも適用が期待できる。
2. 対象とする地域や時間スケールが異なる場合、コスト値の再計算が必要な可能性がある。

[具体的データ]

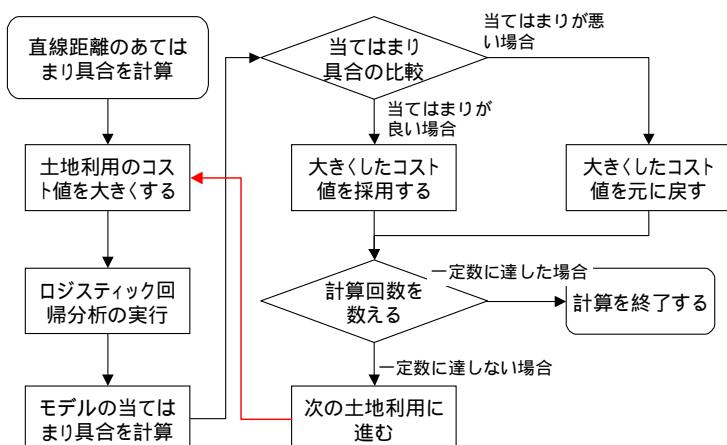


図1 コスト値の推定方法

表1 本手法により推定されたコスト値と単純距離を用いたロジスティック回帰分析の赤池情報量基準の比較

土地利用	単純距離	累積コスト値
落葉広葉樹	1	2
常緑広葉樹	1	1
常緑針葉樹	1	1
笹	1	1
竹	1	6
草地・荒地・ゴルフ場	1	28
果樹園等	1	1
畑	1	8
水田	1	9
土手・崖	1	2
湿地	1	1
住宅地・空地	1	12

赤池情報量基準(AIC) 2223.1 2028.2

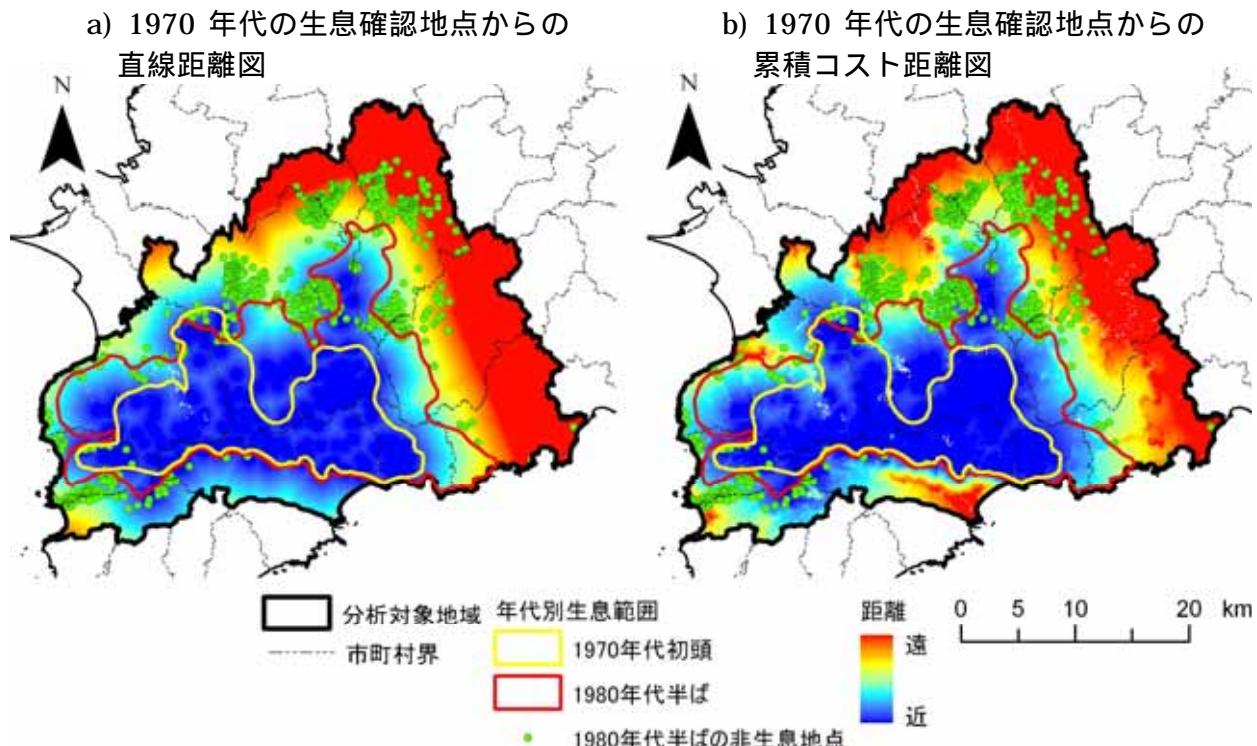


図2 1970年代のニホンザルの生息確認地点からの直線距離図とコスト距離図の比較

[その他]

研究課題名：農業生態系の空間構造変動に関する歴史地図および地形図等の活用手法の開発
(GISを活用した農業生態系の空間構造変動の定量的把握手法の開発)

予算区分：運営費交付金

研究期間：2005年度(2002~2005年度)

研究担当者：岩崎亘典，デイビッド・スプレイグ

発表論文等：

- 岩崎・スプレイグ, 第52回日本生態学会要旨集, 324 (2005)
- 岩崎・スプレイグ, 農村計画論文集, 7, 1-6 (2005)
- Iwasaki and Sprague, Abstract of IMC9, 244-245 (2005)

C . 生態学・環境科学研究に係る 基礎的・基盤的研究

[成果情報名] XANES を用いた水田土壤中のヨウ素の非破壊形態分析とその溶脱機構

[要約] 放射光源 X 線吸収スペクトル近傍構造 (XANES)により、組成が複雑な土壤中においてもヨウ素の選択的な非破壊形態分析が可能である。水田土壤溶液のヨウ素濃度は灌漑期に著しく上昇するが、その要因は、ヨウ素酸(IO_3^-)からヨウ化物イオン(I^-)への還元反応である。

[担当研究単位] 環境化学分析センター 放射性同位体分析研究室

[分類] 学術

[背景・ねらい]

核燃料再処理施設の運転に伴い環境中に放出されるおそれのある放射性同位元素のうち、放射性ヨウ素(^{129}I)は食物を介した内部被曝への寄与率が最も高い。再処理施設の稼働をひかえ、放射性ヨウ素の農業環境中における動態解明が急務である。土壤に比較的強く保持されて存在するヨウ素の形態をとらえるためには、土壤を構成する多くの元素の中からヨウ素だけを選択的に分析できる手法が有効である。そこで、土壤中ヨウ素の非破壊形態分析に放射光源 X 線吸収スペクトル近傍構造 (XANES) を適用し形態分析をおこなうとともに、水田土壤からヨウ素が溶脱する要因を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. XANES により環境中ヨウ素の主要な形態であるヨウ素酸イオン(IO_3^- , +5 値), ヨウ化物イオン(I^- , -1 値), 分子状ヨウ素(I_2 , 0 値), 有機態ヨウ素(0 値)の区別が可能である(図 1)。
2. ヨウ素は K 裂で X 線吸収がおこるエネルギーが 33167eV と高く、土壤中の多量元素による X 線吸収の影響を受けにくい。そのため土壤中のヨウ素の酸化還元状態を非破壊分析する手段として XANES が有効である(図 2)。XANES による非破壊形態分析により、従来法で問題となる抽出過程の形態変化を回避できる。
3. IO_3^- は湛水条件下で微生物活動に伴う酸化還元電位の低下によって、 I_2 あるいは有機態ヨウ素となる。 I^- まで還元したヨウ素は土壤に保持されにくいため、土壤溶液に溶出する(図 2)。
4. 灌漑期の水田土壤からのヨウ素の溶脱の要因は、土壤に保持されやすい IO_3^- が I_2 を介して土壤に保持されにくい I^- へ還元することである。還元により生じた I_2 の一部は、土壤固相に保持される(図 3)。

[成果の活用面・留意点]

放射性ヨウ素による内部被曝量を予測するための基礎データとして、放射性廃棄物処分施設の安全評価、および原子力施設の事故等の緊急時対応策に活用できる。

[具体的データ]

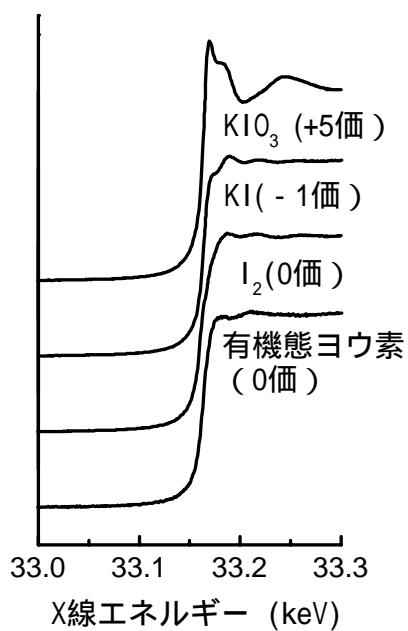


図1 標準物質のXANES

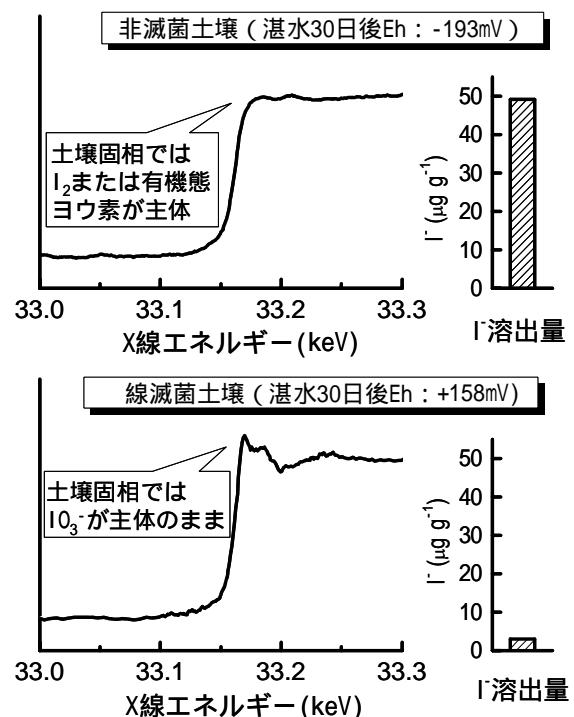


図2 IO_3^- を添加し30日湛水培養後の土壤中ヨウ素のXANESおよび液相への I^- 溶出量(I^- 溶出量はICPMSで測定)

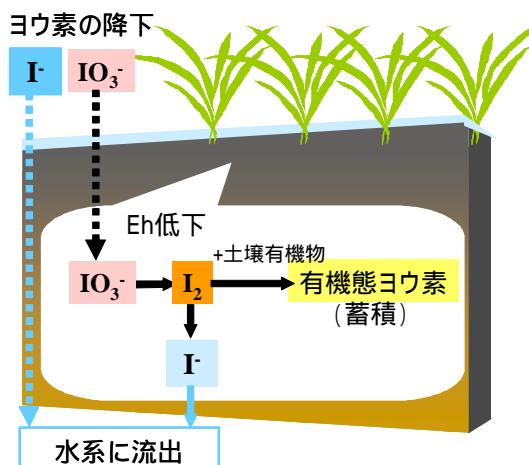


図3 湛水状態の水田土壤におけるヨウ素の形態変化

[その他]

研究課題名：放射性核種の農作物への吸収移行および農林生産環境における動態解明
(リスク評価のための ^{137}Cs 等放射性同位元素の平常時モニタリング)

予算区分：運営費交付金，文科省・放調費 [放射性核種]

研究期間：2005年度(2003～2005年度)

研究担当者：山口紀子，藤原英司，谷田肇(高輝度光科学研究センター)

発表論文等：

- 1) Yamaguchi et al., J. Environ. Radioactiv., 86 (2) 212-226 (2006)
- 2) Yamaguchi et al., SPring-8 User Experiment Report, No.14, 2 (2005)
- 3) 山口ら, 日本土壤肥料学会講演要旨集第51集, 32 (2005)

[成果情報名] 反射光の偏光特性を利用した作物個体群情報の計測方法

[要約] 作物個体群から反射される太陽光を偏光分光放射計で測定して得られる波長別の反射強度および偏光の程度をニューラルネットに入力することにより、イネ、ダイズ、ソルガムおよびコムギ葉群の平均葉面傾斜角、葉面積指数、葉緑素濃度および草高を同時に非破壊・非接触で推定する方法を開発した。

[担当研究単位] 地球環境部 生態システム研究グループ 環境計測ユニット

[分類] 学術

[背景・ねらい]

太陽エネルギーや肥料等資材の利用効率を面的に把握し、農業が環境に与える影響を定量的に評価するためには、さまざまな種類の作物が混在するなかでそれぞれの作物個体群の生産構造と栄養状態を現場または上空から迅速に計測する必要がある。生産構造の指標として、葉群の平均葉面傾斜角と葉面積指数、また栄養状態の指標として葉緑素濃度および草高が重要である。従来は、作物個体あるいはその一部を試料として切り取って計測することが多かった。また葉緑素計、キャノピアナライザなどの機器を利用する場合においても個々の作物葉に触れ、または個体群内に立ち入って測定する必要があった。そこで葉群の平均葉面傾斜角、葉面積指数、葉緑素濃度および草高を一挙に遠隔推定する方法を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 作物により反射された太陽光を可視、近赤外域の8波長バンドに分光してその光強度を計測するとともに、作物表面等で反射される際に生じる偏光（電磁波としての光の振動面の方向の偏り）成分の割合を検出できる偏光分光放射計を用いる。測定波長バンドとして葉緑素の吸収帯、植物の新鮮組織による反射、および水分の吸収をそれぞれ評価できる波長を採用している。この装置自体は当所で保有する既存の特注品であり、本成果は適用対象・目的の拡大とそのための方法に関する新たな知見である。
2. 測定は快晴時に作物個体群の近傍から斜め下向きに15°～75°の範囲の15°間隔(5方向)、太陽を正面に見る方位で行う(図1)。多くの場合、反射面に対して入射光と反射光が特定の角度関係となる場合に偏光成分が増大する。この測定条件では、概して地面に対して水平に展開する葉面は垂直な葉面よりも反射光中の偏光成分が多くなる。
3. 5方向からそれぞれ測定した波長バンドごとの反射の強さと偏光成分の割合とを入力すると平均葉面傾斜角、葉面積指数、葉緑素濃度および草高を出力するニューラルネットワークを開発した(図2)。
4. イネ、コムギ、ダイズ、ソルガムを対象としたサンプル実験で、既存の方法として用いた葉緑素計、キャノピアナライザおよびスケールの測定読み値によってこのニューラルネットを調整したところ、上記4種の情報について、決定係数と二乗平均平方根誤差($R^2/RMSE$) 0.75/3.2°, 0.76/0.68, 0.72/3.1, 0.77/8.5cmを得た(図3, 4)。
5. 偏光を使うことによりこれまで反射光による推定が困難だった平均葉面傾斜角が推定可能になる。また他の項目に関しては、作物ごとに形態が異なるために、従来は複数の作物種で共通に使える反射光による推定方法が見あたらなかった点を改善している。

[成果の活用面・留意点]

1. 偏光分光放射計は特注する必要がある。また使用装置や作物種が異なる場合、あるいは個別作物種内での精度向上をはかるにはニューラルネットの再調整が必要である。
2. 航空機等による実際応用場面では、今回の測定高 2m 内外からの実験と比較して対象との距離が大きくなるため、大気や視野範囲の影響を考慮した検証作業の必要がある。

[具体的データ]

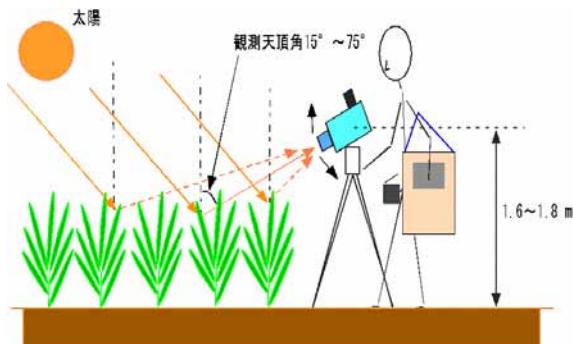


図 1 作物個体群測定の模式図

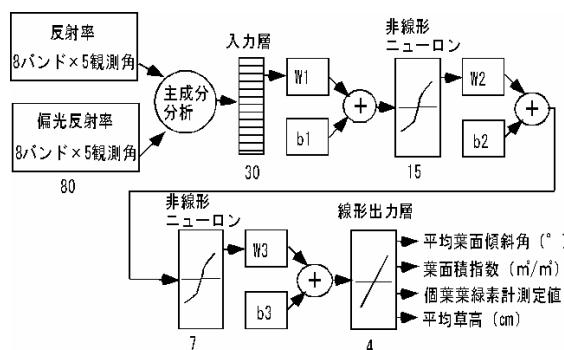


図 2 ニューラルネットワークの構成
W1 ~ W3 は重み , b1 ~ b3 はバイアス ,
各ユニット下の数字は変数または要素の数

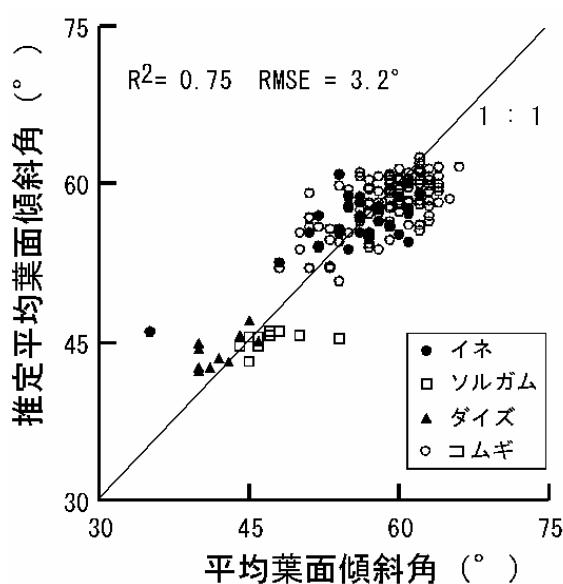


図 3 本方法による各種作物個体群の平均葉面傾斜角推定値(縦軸)とキャノピアナライザによる測定値(横軸)

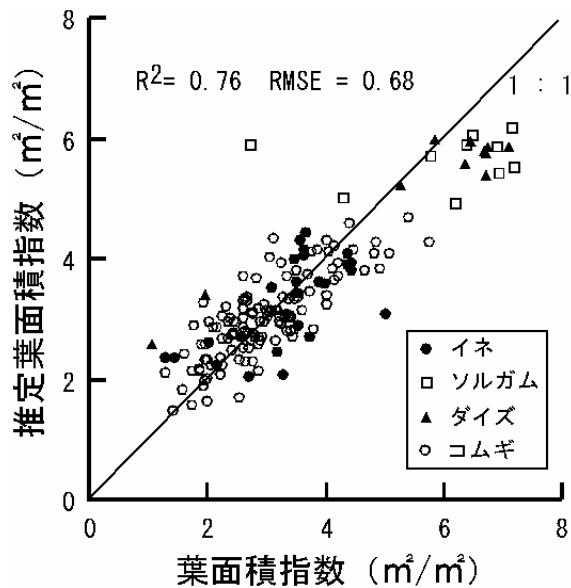


図 4 本方法による各種作物個体群の葉面積指數推定値(縦軸)とキャノピアナライザによる測定値(横軸)

[その他]

研究課題名：リモートセンシングおよびモデリングによる植物・環境情報の計測評価
(リモートセンシングによる植被動態の広域的検出評価手法の開発)

予算区分：運営費交付金

研究期間：2005 年度 (2001 ~ 2005 年度)

研究担当者：芝山道郎

発表論文等：

- 1) Shibayama, Plant Prod. Sci. 7(4), 397-405, (2004)
- 2) 芝山, 日本リモートセンシング学会第 36 回学術講演会論文集, 141-142, (2004)
- 3) 芝山, 日本作物学会紀事 73 卷 (別号 1), 260-261, (2004)
- 4) 芝山, 日本作物学会紀事 74 卷 (別号 2), 298-299, (2005)

[成果情報名] 昆虫文献目録「三橋ノート」の画像データベースの作成と公開

[要約] 明治時代から昭和 20 年代後半までに国内で出版された主要な昆虫関連図書や雑誌に現れた昆虫名とその文献の書誌情報を記録した昆虫文献目録「三橋ノート」の中から、トンボ目とチョウ目（約 20,000 頁）の画像データベースを作成し、Web 上に公開した。

[担当研究単位] 農業環境インベントリーセンター 昆虫分類研究室、インベントリー研究官

[分類] 学術

[背景・ねらい]

農業環境技術研究所には、当所の前身である農事試験場に籍を置いていたこともある故三橋信治氏が作成した文献目録「三橋ノート」（全 474 冊、推定 50,000 頁）が保管されている（図 1）。この目録は、明治時代から昭和 20 年代後半までの昆虫に関する国内の主要な文献を対象とし、それぞれの文献中に現れた昆虫の学名および和名と当該文献の書誌情報を昆虫の分類群毎に整理したものである。かつては昆虫研究者や昆虫愛好家の間で広く知られ、有用な情報源として活用されていた。最近のデータベースでは入手することができない明治期以来の情報を得ることができるので、昆虫の生息分布や発生状況の変遷などを調べるうえで今日においても有用であり、また古い文献情報を必要とする分類研究においては特に利用価値は高い。長年にわたって蓄積してきたこれらの情報は、我が国の昆虫研究の土台となつた貴重なものであり、その有効活用を図るため Web 上に公開する。

[成果の内容・特徴]

1. 「三橋ノート」全 474 冊、推定 50,000 頁のうち、トンボ目（7 冊、1,223 頁）とチョウ目（118 冊、18,521 頁）の合計約 20,000 頁のデジタル画像から成るデータベースを作成し、Web 上に公開した（<http://mitsuhashi.niaes.affrc.go.jp>）。
2. 本データベースには、トンボ類約 300 種、チョウ類約 650 種、ガ類約 5,300 種に関する明治時代から昭和 20 年代後半までの文献書誌情報（著者名、タイトル、書名、巻、号、頁、発行年など）が含まれている（図 4）。
3. 1945 年以前の台湾、朝鮮半島および中国東北部の昆虫とその関連文献の情報も含まれている。
4. 各頁に記されている主要な学名と和名をその頁のキーワードとして登録してあるので、閲覧したい分類群の学名もしくは和名を用いて掲載頁を検索することができる（図 2～4）。

[成果の活用面・留意点]

1. 頁画像の和名キーワードには、現代仮名遣いを使用している。
2. 記載されている昆虫の学名や和名は当時のものであり、現在一般に使用されているものとは必ずしも一致しない。
3. トンボ目とチョウ目以外の部分についても、データベースに順次追加する予定である。

[具体的データ]



図1 「三橋ノート」の書棚

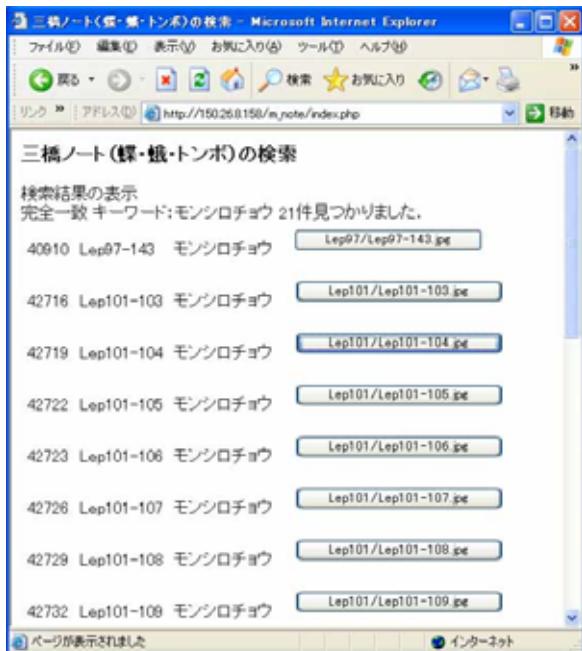


図 3 検索結果表示画面



図2 キーワード検索画面

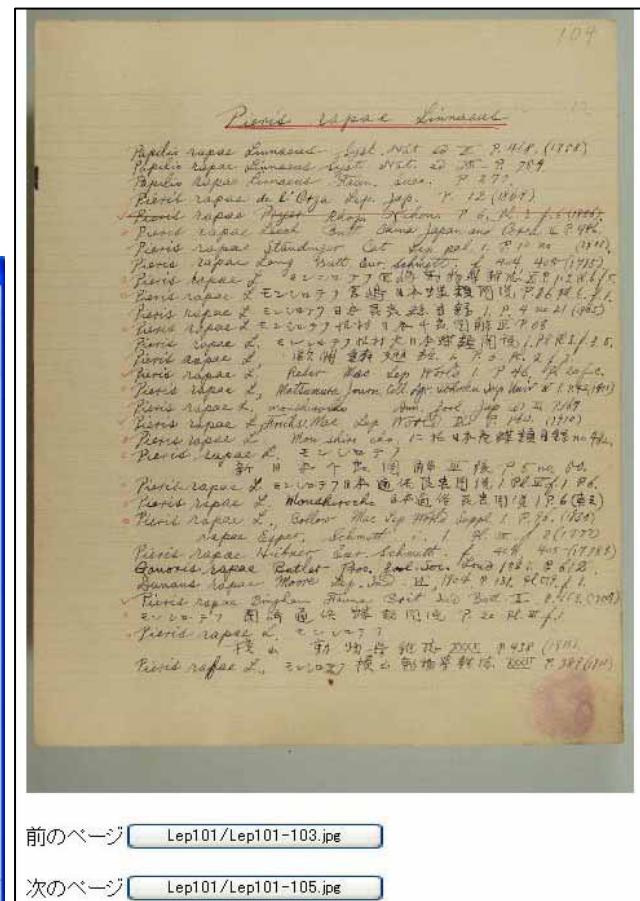


図4 頁表示画面

「その他」

研究課題名：所蔵タイプ標本等のデータベース化と昆虫イベントリーのためのフレームの構築 (所蔵タイプ標本等のデータベース化及びイベントリーのためのフレームの構築)

予算区分：運営費交付金

研究期間：2005 年度（2001 ~ 2005 年度）

研究期間：2005 年度（2001-2005 年度）
研究担当者：安田耕司 吉松慎一 中谷至伸 上田義治

研究担当者：
登表論文等：

1) 安田ら 日本昆虫学会第 63 回大会 (2003)

[成果情報名] 130 年にわたって採集された微生物さく葉標本の目録の作成と公開

[要約] 農業環境技術研究所に保存されている 1876 年以降に採集された微生物さく葉標本 7204 点の目録を作成した。タイプ標本，菌学者 Sydow 氏らの標本，一般さく葉標本など菌種 365 属 1477 種，寄主植物 621 属 1322 種の標本情報が収録されている。

[担当研究単位] 農業環境インベントリーセンター 微生物分類研究室

[分類] 学術

[背景・ねらい]

糸状菌（かび）の分類研究では，標本は不可欠である。特に植物に寄生するかびの新種記載時には，かびが寄生した植物葉の乾燥押葉などをさく葉標本として標本館で保管する必要がある。農業環境技術研究所には，旧農商務省農事試験場時代の明治期から数多くの微生物標本が収められている。しかし，今までこれら微生物標本の目録はなく、標本の有効活用のための支障となっていた。そこで，標本館所蔵の全微生物さく葉標本の目録を作成し Web 上で公開した。

[成果の内容・特徴]

1. 1876 年以降に収集され農業環境技術研究所に保存されている微生物さく葉標本 7204 点に関する，菌種 365 属 1477 種，寄主植物 621 属 1322 種の目録を作成した。本目録には，タイプ標本類，Sydow 氏ら標本，一般さく葉標本など（表 1，図 1）について，微生物種名，異名，病名，寄主植物和名，学名，採集地，採集年月日および採集者などの基本標本情報が収録され，Web (<http://www.niaeasaffrc.go.jp/inventory/microorg/specimen/index.html>) で公開されている（図 2）。
2. 「タイプ標本類」には，正基準標本（ホロタイプ）13 点と，正基準標本とともに指定された副基準標本（アイソタイプ）2 点，および重複標本（パラタイプ）1 点が収録されている。
3. P.Sydow 氏，N.G.Lagerheim 氏ら著名な菌学者によって，スウェーデン，ドイツ，オーストリアなどで収集された野草類のクロボ菌およびさび菌の標本を「Sydow 氏ら標本」として収録した。
4. 「一般さく葉標本」は，主として日本で採集された微生物乾燥さく葉標本で，これらを宿主植物学名のアルファベット順，同一植物では寄生する微生物の学名のアルファベット順に収録した。植物分類学者である牧野富太郎氏が収集した微生物標本 7 点も含まれ，特に，標本数の多いものとして堀正太郎氏（元農事試験場）の標本（659 点）などがある。
5. 「日野氏ブラジル採集標本」は、日野稔彦氏（元農業技術研究所）が 1974-1975 年にブラジルのルイス・デ・ケイロス農学校（ESLAQ）に滞在中、その周辺地域で採集した標本（196 点）である。
6. 「キノコ類標本」は，1957-1965 年に国内で採集されたもので，学名のアルファベット順に収録した。

[成果の活用面・留意点]

1. 糸状菌などの微生物の分類には標本は不可欠であり，本目録は糸状菌の分類研究に貢献する。
2. 一般標本については旧地名が記載されていることもあり，パケット（標本袋）に記載されたままの地名を収録し，現在の地名には変換していない。このため，一般標本と Sydow 氏らの採集標本などの採集地名は，牧野標本館（首都大学東京）の例に従い「ラベル地名（原記載を加工せずにそのまま記載したもの）」欄を作成し掲載した。

[具体的データ]



図1 微生物さく葉標本
上図：パケット（標本袋）
下図：パケット中のさく葉標本

表1 収録されている標本の種類

標本の種類	点数
タイプ標本類	46
Sydow氏ら標本	254
一般さく葉標本	6611
日野氏ブラジル採集標本	196
キノコ類標本	97
計	7204

図2 微生物標本目録公開 Web サイトのトップ画面

[その他]

研究課題名：イネ科植物における常在微生物の所在、特性及び遺伝情報のデータベース化とインベントリーのためのフレームの構築

（主要イネ科植物に常在する微生物相の分類・同定と機能の解析及びインベントリーフレームの構築）

予算区分：運営費交付金

研究期間：2005年度（2001～2005年度）

研究担当者：對馬誠也、小板橋基夫、吉田重信、田村季実子、月星隆雄（花き研）、篠原弘亮（東北農研）

[成果情報名] 植物生息細菌の定性・定量的解析とデータベースの構築

[要約] 栽培イネ、コムギなど8種の植物に生息する細菌約15,000株の定性・定量的解析を行い、それらの情報をデータベース化した。この解析により、植物固有の細菌相の存在を明らかにするとともに、世界ではじめて栽培イネ「コシヒカリ」葉鞘由来の窒素固定菌を発見した。

[担当研究単位] 農業環境インベントリーセンター 微生物分類研究室

[分類] 学術

[背景・ねらい]

植物体表面は、紫外線、乾燥と降雨、化学物質などの多くの環境ストレスに晒された一種の「極限環境」といわれている。一方、植物の内部は、植物の生産する毒素や種々の抵抗反応により、植物体表面とは異なるストレスに晒されている。このため、そこに生息する微生物はこのようなストレスに対抗するために様々な生物機能をもつと考えられるが、植物に生息する細菌相についてその構成種類と機能を解析した研究は少ない。そこで、現在取り組んでいる「微生物インベントリー」(*microForce*)の一つとして、イネ科植物などを対象に、分離情報、DNA情報および機能情報を調べて「植物生息細菌データベース」を構築し、その結果を解析した。

[成果の内容・特徴]

1. イネ、コムギ、オオムギ、トマトおよびチンゲンサイなどの8種の健全植物の葉、穂などから細菌約15,000株を分離し(表1)、分離植物名、分離時期、分離培地名、分離者名、16SリボソームRNA遺伝子(rDNA)塩基配列および各種機能などを収録した植物生息細菌データベースを構築した。rDNAの塩基配列に基づき細菌のグループングを行った結果、優占する細菌種は植物種、部位ごとに比較的安定しており、かつそれぞれ特徴的であることが示唆された(図1)。
2. 栽培イネ「コシヒカリ」の葉鞘から窒素固定菌(*Herbaspirillum* sp.)が分離された。窒素固定菌が野生イネから分離された例はあるが、栽培イネから分離されたのは世界で初めてである。窒素固定菌は、そのrDNA塩基配列から新種の可能性がある。
3. その他、本データベースにはムギ類赤かび病菌が生産するかび毒デオキシニバレノール(DON)分解能・耐性能、トマトが生産するアルカロイド(-トマチン)の分解能・耐性能、展着剤(ノニルフェノールポリエトキシレート)処理のイネ細菌相に及ぼす影響、各種植物の寄生菌に対する拮抗能などの情報が収録されている。

[成果の活用面・留意点]

1. 本データベースは、どの植物にどのような種類や機能を持つ細菌が生息しているか、あるいは作物上でどのように利用するか、などの情報を知りたい時に有効である。
2. これら微生物情報の一部に関しては現在研究中であり、限定した形で公開中である。得られた成果については、現在公開中の「微生物インベントリー」(*microForce*)上で公開する予定である。

[具体的データ]

表1 植物生息細菌データベースに収録した細菌株数

分離植物名	分離部位	細菌数
イネ	葉鞘、穂、粉	5769
コムギ	葉鞘、穂	832
オオムギ	葉鞘、穂	1225
トマト	葉	4355
イチゴ	葉、葉柄	1395
チンゲンサイ	葉、葉柄	160
コマツナ	葉、葉柄	52
ニラ	葉	1061
計		14849

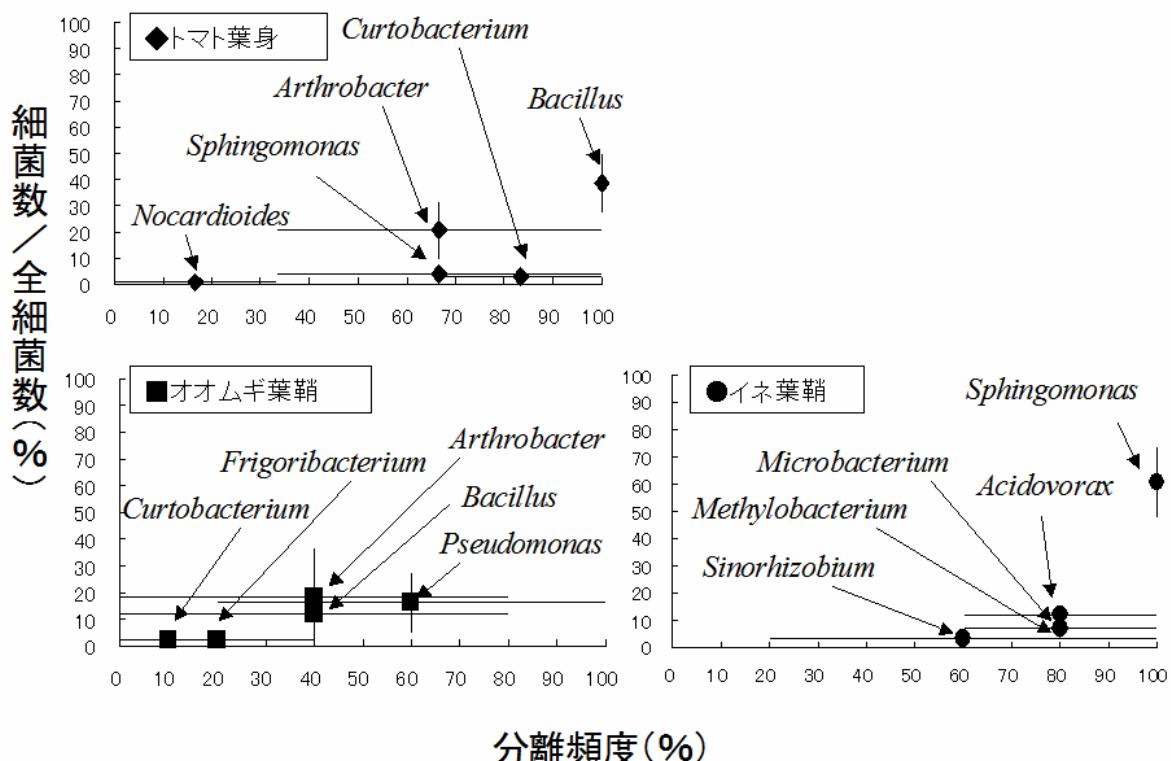


図1 各種植物における優占細菌の種類（普通寒天培地（NA培地）で分離）
バー：標準誤差

[その他]

- 研究課題名：イネ科植物における常在微生物の所在、特性及び遺伝情報のデータベース化とインベントリーのためのフレームの構築
(主要イネ科植物に常在する微生物相の分類・同定と機能の解析及びインベントリーフレームの構築)
- 予算区分：運営費交付金
- 研究期間：2005年度（2001～2005年度）
- 研究担当者：対馬誠也、小板橋基夫、吉田重信、田村季実子、月星隆雄（花き研）、篠原弘亮（東北農研）

参考資料

(指定試験から提出のあった成果情報)

[成果情報名] LCA手法による水稻不耕起移植栽培の温室効果ガス排出削減効果の評価

[要約] 不耕起移植栽培は代かき移植栽培に比べ、二酸化炭素に換算して約 $1,800\text{kg}\text{ha}^{-1}$ の排出削減効果がある。これは主としてメタン発生量の低減に起因し、耕起、専用田植機、除草剤など作業体系の影響は小さい。無代かき移植栽培の地球温暖化への影響は、代かき栽培と同等である。

[担当研究単位] 秋田農試 生産環境部 環境調和担当

[分類] 技術

[背景・ねらい]

水稻不耕起移植栽培は、代かき濁水を排出しないことによる水質保全に加えて、耕起の省略による燃料の節約、水田からのメタン排出量が小さくなることによる大気保全、水生生物の保全など、多面的な環境保全効果が期待されている。一方、耕起しないために部分耕起できる専用田植機の整備や耕起前の非選択性除草剤の散布など、温室効果ガスの発生量が高くなる要因もある。そこで、ライフサイクルアセスメント(LCA)手法を導入して、耕起方法の違いによる地球温暖化への影響の違いを明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 地球温暖化への影響を比較する際の想定条件を細粒質グライ土水田の大規模経営とした(表1)。耕起方法の違いによる玄米、わら収量への影響は小さい。
2. 代かき移植栽培の作業体系と比較すると、不耕起移植栽培では非選択性除草剤の散布を行うが、耕起、代かき作業がなく、無代かき移植では耕起後、碎土作業を行う(図1)。
3. 不耕起移植栽培では、土壤が酸化的に推移し、メタン発生量が代かき栽培の約6割となる(図2)。無代かき移植のメタン発生量、土壤酸化還元電位(Eh)は代かき栽培と同等である。
4. 不耕起移植栽培では、耕起、代かきの省略による燃料の節約効果が、不耕起田植機の重量増加、非選択性除草剤の散布に起因する燃料消費より大きく、代かき移植栽培に比べ二酸化炭素の発生量がhaあたり30kg程度削減される(表2)。
5. 水田からの温室効果ガス収支に対して、耕起方法の違いはメタン発生量において最も大きな影響がある(表2)。亜酸化窒素発生量はメタン発生量に比べて1割以下の影響しかなく、土壤からの二酸化炭素発生量(土壤呼吸)は耕起方法に関わらずほぼ同じである。
6. 耕起方法の違いによる地球温暖化への影響について、作業、資材、温室効果ガス排出量をあわせて考えると、不耕起移植栽培は代かき移植栽培に比べ、二酸化炭素として約 $1,800\text{kg}\text{ha}^{-1}$ 程度の排出削減効果がある(表2)。一方、無代かき移植栽培の地球温暖化への影響は、代かき栽培と同等と考えられる。

[成果の活用面・留意点]

1. 不耕起栽培を7~8年継続するとメタン排出量が代かきよりも高くなった事例が報告されているが、長期の継続は、雑草の制御、不等沈下などの問題があり前提条件としていない。
2. 土壤の鉄含量が高い場合、代かき栽培のメタン排出量が抑制されて不耕起栽培より小さくなる事例が報告されているが、本試験のメタン排出量は、日本の水田として平均的な値であり、中干し直前の水田土壤の活性二価鉄含量もメタン排出量が抑制された場合より低い。
3. LCAでは、製品の原材料の採取、製造、使用、処分まで生涯を通じての環境影響を評価する。本成果では、作業、資材、水田からの温室効果ガス発生量の違いを検討している。

[具体的データ]

表1 耕起方法の異なる水稻栽培の地球温暖化影響を比較するための条件	
対象	CO ₂ 換算した不耕起、無代かき、代かき栽培の温暖化影響の違い
経営、土壤	面積15ha、うち水田10haの大規模経営 細粒質グライ土水田、水稻連作条件、不耕起の長期継続は想定外
栽培、収量	あきたこまち移植、育苗箱全量施肥50 kg N ha ⁻¹ 不耕起の収量は代かき(2002~5年、5470kg ha ⁻¹)比101% 不耕起のわら収量は代かき(7110kg ha ⁻¹)比97%で若干低い傾向 無代かきの収量(代かき比98%)、わら生産量(101%)は代かきと同等
評価単位	haあたりの二酸化炭素発生量の違いとして評価する
機械装備	田植機の耐用年数5年、それ以外の機械装備、耐用年数は同じ
作業、資材 からのCO ₂ 発生量	農作業による環境影響評価のためのデータベース(中央農研 2004) 固定資本形成が考慮されたLCAデータベース (日本建築学会、2003年、1995年産業連関表に基づく)
燃料原単位	地球温暖化対策の推進に関する法律施行令(環境省2002.12改正)
温暖化係数	CO ₂ 換算は、メタン23、亜酸化窒素296倍(第3次報告書IPCC,2001)
圃場履歴など	代かき(2000) 代かき(2001) 無代かき(2002) 不耕起(2003) 代かき、無代かき、不耕起(2004、2005) 土壤炭素含量への影響は直接の調査対象としなかった

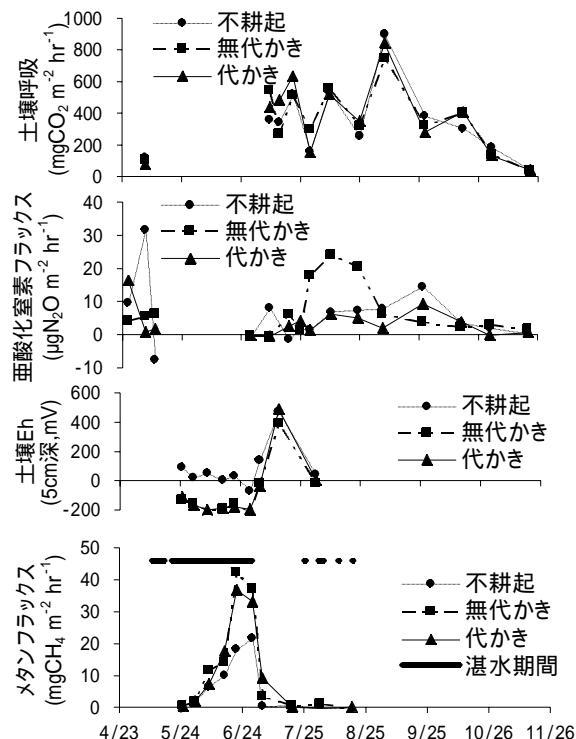


図2 耕起方法の違いがメタン、亜酸化窒素フラックス、土壤酸化還元電位(Eh)、土壤呼吸に及ぼす影響(2005年)

メタン、亜酸化窒素フラックスはチャンバー・ガスクロ分析法、土壤呼吸はチャンバー・アルカリ吸収滴定法により測定した

[その他]

研究課題名：閉鎖水系水田地帯における持続性の高い農業生産方式の環境負荷評価と環境負荷物質低減技術の開発

予算区分：指定試験

研究期間：2004~2005年度

研究担当者：原田久富美、小林ひとみ、進藤勇人

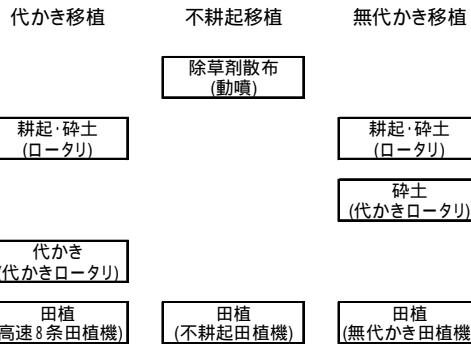


図1 代かき移植、無代かき移植、不耕起移植栽培における本田作業の違い

表2 耕起方法の異なる水稻栽培における二酸化炭素発生量に換算した地球温暖化への影響比較 (kg CO₂ ha⁻¹)

	代かき	不耕起	無代かき
作業			
耕起前除草剤散布	-	9.1	
耕起・碎土(ロータリ使用)	51.9	-	51.9
碎土(代かきロータリ使用)	-	-	30.6
代かき(代かきロータリ使用、2.5回)	49.4	-	
田植え 高速8条田植え機	28.5	28.5	28.5
資材			
除草剤(7.5kg)		47.7	
田植え機 重量増加分	-	13.6	13.6
作業及び資材小計	129.8	98.9	124.6
代かきとの差	0.0	-30.9	-5.2
水田からの温室効果ガス発生量			
メタン発生量(2004年、2005年の平均)	4117	2346	4186
亜酸化窒素発生量(2005/4/26~11/21、湛水期間5/11~6/29除く)	47	77	83
温室効果ガス小計	4164	2423	4269
代かきとの差	-1741	105	
代かきとの差 総計	0	-1772	100

***2元配置分散分析により処理間に有意差あり(*p<0.05, **p<0.1)

補足: 2005年の土壤呼吸(根呼吸含む、図2)は、13620(代かき)、13256(不耕起)、13519(無代かき)kg ha⁻¹であり、耕起方法による土壤からのCO₂発生量に明確な違いは認められない。一方、2004年のわら投入量(CO₂換算)は10034(代かき)、9882(不耕起)、10098(無代かき)kg ha⁻¹。

[成果情報名] ケイ酸石灰施用による代かき濁水由来の水質汚濁の低減

[要約] れき質灰色低地土の水田へケイ酸石灰 200kg/10a 程度を施用してから 2 週間以内に代かきをすることで、EC が上昇して懸濁物質 (SS) の沈降が早まり、代かき時に発生する懸濁物質のほ場からの流出を低減できる。

[担当研究単位] 富山農業技術センター 農業試験場 土壤肥料課

[分類] 技術

[背景・ねらい]

砂質浅耕土地域における水田からの栄養塩類の流出は、他地域同様に懸濁態での流出が多い。側条施肥では、施肥成分による土壤コロイド粒子の凝析が期待できず、栄養塩類を含んだ懸濁物質の流亡が増加すると考えられる。節水代かきは、懸濁物質の流亡を低減できる技術であるが、「いつき」の生じやすい輪換利用体系下の砂質浅耕土では適用が困難である。また、近年は有効態ケイ酸が減少傾向にあり、ケイ酸資材の施用を推進している。そこで、ケイ酸石灰の施用により懸濁物質の凝集を促進し、水質汚濁を低減する技術の開発を行う。

[成果の内容・特徴]

1. 田面水中の懸濁物質（以降 SS と表記）濃度は代かき直後に急激に増加するが、水田からの排水は田面水位の調節が必要な代かきや移植の直前に行われるため、排水中の SS 濃度は移植直前の排水時がもっとも高くなる状況にある（図 1）。なお、入水から移植までの期間に排出される SS 及び窒素量は、それぞれ 9.2kg/10a、0.45kgN/10a 程度である。
2. 室内試験において、土壤にケイ酸石灰を添加すると土壤懸濁液の電気伝導度（EC 塩類濃度）は、添加量に応じて高くなり、また添加した後、緩やかに上昇を続けて、3 日目以降に最大に達する（図 2）。
3. また、2 と同様に土壤に肥料や資材を添加した場合、無添加に対する SS 濃度の割合は、硫安、KCl、 CaCl_2 では添加直後で最も低くなるが、ケイ酸石灰では電気伝導度の変化と同様に、3 日以後まで低下を続ける（図 3）。
4. ケイ酸石灰を施用してからの植代までの日数と田面水中の SS 濃度との関係を指數関数で近似し、図 4 の式を得て試算すると、ケイ酸石灰を施用してから 2 週間以内に耕起から植代まで行うことで、田面水中の SS 濃度を 80% 以下に低減できる（図 4）。

[成果の活用面・留意点]

1. 砂質浅耕土地帯のれき質灰色低地土ほ場において、基肥を全層施肥で行っていない場合に適用できる。
2. 粘土含有量が約 10% の礫質灰色低地土ほ場の結果である。

[具体的データ]

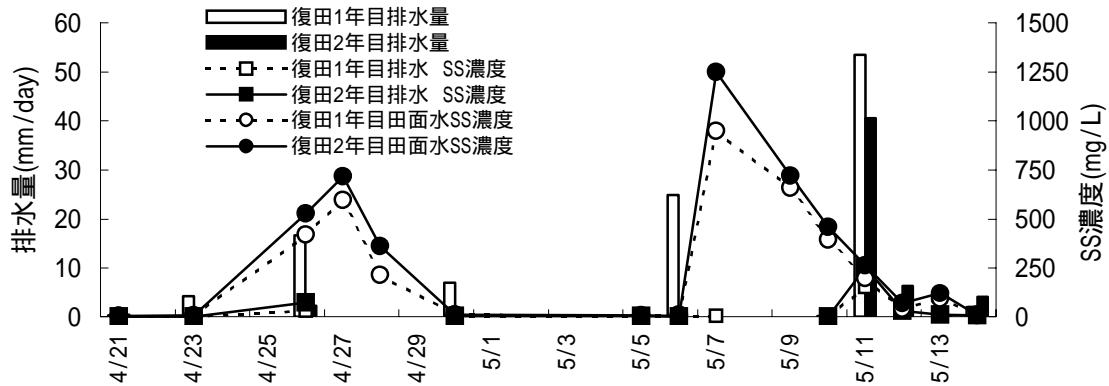


図1 入水から移植期における排水量及び排水、田面水SS濃度の推移

*H16年度の結果で、排水量は日積算値、SS濃度は測定値の平均値
入水は4/21、荒代4/26、植代5/7、移植5/11(復田1年目)、5/12(復田2年目)
排水SS濃度は排水時、田面水SS濃度は代かき等のイベント後の値

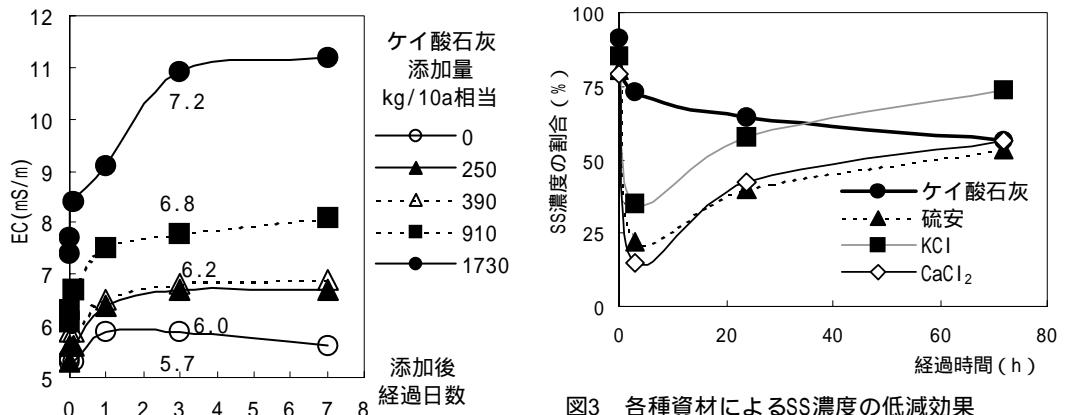


図2 ケイ酸石灰添加した時の土壤懸濁液の電気伝導度の推移

*図中の数値は添加3日目の懸濁液のpH

図3 各種資材によるSS濃度の低減効果

* 無添加を100とした時のSS濃度の割合
ケイ酸石灰は200、他は20kg/10a相当を添加
沈殿ビンに乾土100g相当を入れ、蒸留水で
500mLに定容後、1分間反転攪拌

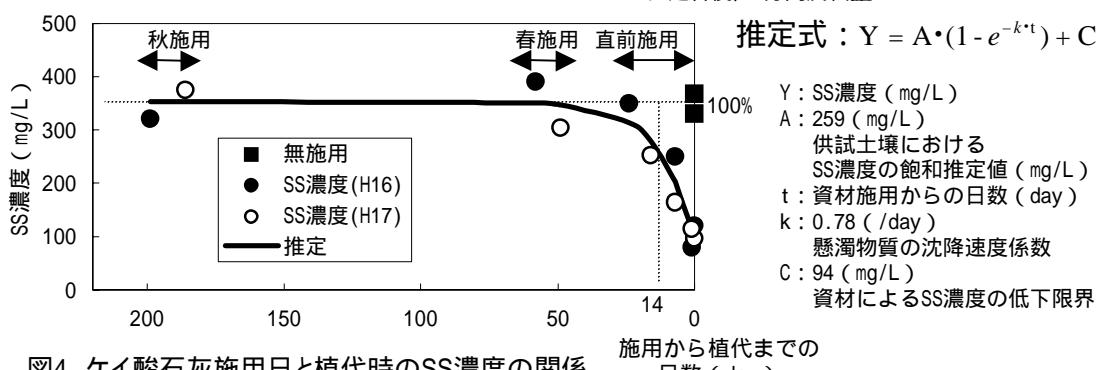


図4 ケイ酸石灰施用日と植代時のSS濃度の関係

*ケイ酸石灰200kg/10a相当を添加、攪拌後3時間の値

$$\text{推定式: } Y = A \cdot (1 - e^{-k \cdot t}) + C$$

Y: SS濃度 (mg/L)
A: 259 (mg/L)
供試土壌における
SS濃度の飽和推定値 (mg/L)
t: 資材施用からの日数 (day)
k: 0.78 (/day)
懸濁物質の沈降速度係数
C: 94 (mg/L)
資材によるSS濃度の低下限界

[その他]

研究課題名：懸濁物質の凝集による田面排水に由来する栄養塩類の流出抑制技術の開発

予算区分：国補（指定試験事業）

研究期間：2004～2005年度

研究担当者：大野智史、八木麻子、田村美佳

[成果情報名] 冬期掛け流し灌漑を行う場合の水田の硝酸性窒素除去能の推定式

[要約] 水田において通年掛け流し灌漑によって硝酸性窒素除去を行う場合、脱窒活性の低い冬期においては降下浸透による除去量が表面流去のそれを上回る。提案した推定式を用いれば、降下浸透水の寄与を考慮したうえで、水田の硝酸性窒素除去能力を推定できる。

[研究単位] 静岡農試・海岸砂地分場

[分類] 学術

[背景・ねらい]

台地に茶園を有する地域では、過去の多施肥によって茶園下の深層に集積した高濃度の硝酸性窒素が河川へ流出することが問題となっている。こうした河川水の窒素除去には水田・休耕田の脱窒機能を活用することが有効である。この地域では、河川水の硝酸性窒素濃度は年間を通して一定であるのに対し、水田における窒素除去速度は低温期に低下するために、窒素除去に活用する水田面積は冬期の除去能力に基づいて算出する必要がある。そこで冬期における休耕田に対応した除去能の推定式を提案する。

[成果の内容・特徴]

1. 通年掛け流し灌漑した休耕田の脱窒作用によって河川の硝酸性窒素の除去を図る場合、田面水での除去能力は低温期に低下する(図1)。このため、冬期においては滞留時間が長い降下浸透水中での窒素除去が重要となる(図1)。降下浸透水中での窒素除去能力は、みかけ上は温度に依存せず、水温が 2 ~ 40 の範囲で硝酸性窒素濃度はほぼ環境基準値以下となる(図2)。
2. 降下浸透水に関しては水温に関わらず充分な硝酸性窒素の除去が行われるとし、流入水のうち降下浸透水を差し引いた表面流去水中の硝酸性窒素が温度に依存して除去されるモデルを作成した。すなわち、浸透を考慮した水収支に基づいて、降下浸透水が考慮されない既往の「水田除去機能付き窒素流出モデル(式1、田渕ら(1996))」を拡張すると式 2a が得られる。ここで A : 水田面積、 Q : 流入水量、 x_0 および x : それぞれ流入および流出水中の硝酸性窒素濃度、 P : 降下浸透水量、 T : 水温である。除去係数 a は水温 T と関連付けた式3から求める。
3. これらの式を用いると水温が 2 ~ 37 の範囲で表面流去水の硝酸性窒素濃度を満足のいく精度で予測できる(図3)。さらに式 2a を水田面積 A について解いた式 2b を用いれば水温、硝酸性窒素濃度および水量が既知の河川水において、硝酸性窒素濃度を目標値まで低下させるために必要な水田面積を求めることができる。

[成果の活用面・留意点]

1. 水田・休耕田を活用した水質浄化対策を立案する際に基礎資料として活用できる。
2. 河川の硝酸性窒素流出量には大雨時の流出量は含まれない。
3. 調査期間は 1997 年 6 月 ~ 2005 年 10 月、調査圃場は 50m² の掛け流し水田、土壤は表層グライ灰色低地土に、1998 年 9 月以降、有機物を鋤きこまず裸地管理している。
4. モデルの作出に用いた各パラメータの範囲は x_0 (18 ~ 33mgN/L)、 A (17 ~ 50m²)、 Q (0.2 ~ 10m³/d)、 T (2.4 ~ 37) である。

[具体的データ]

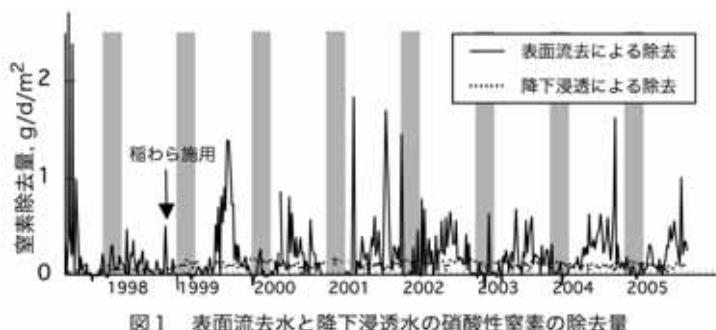


図1 表面流去水と降下浸透水の硝酸性窒素の除去量

網かけは冬期(12~2月)を示す。流入水、流去水、降下浸透水、不明流出水の平均速度はそれぞれ56、34、5.2、10mm/d。流入水、流去水の速度は水口、水尻に取りつけた水道メーターから求めた。降下浸透水の速度はN型減水深測定器を耕盤(20cm)まで挿入し、得られた減水深速度から蒸発速度を差し引いた値。不明流出水の速度は水口と水尻からの水の出入りを止めた際の水田全体の減水深速度から降下浸透水速度と蒸発速度を引いた値。蒸発速度は水田近傍に埋設した有底容器中の水の減水速度から求めた(降下浸透水速度、不明流出水速度は2005年8月~10月の平均値)。

表面流去および降下浸透による流出水中での窒素除去量は以下の式から求めた。ただし表面流去速度に関しては測定毎の実測値を、降下浸透水に関しては一定値(5.2mm/d)を用いた。

$$\text{窒素除去量} = (\text{流入水の窒素濃度} - \text{流出水の窒素濃度}) \times \text{流出水量}$$

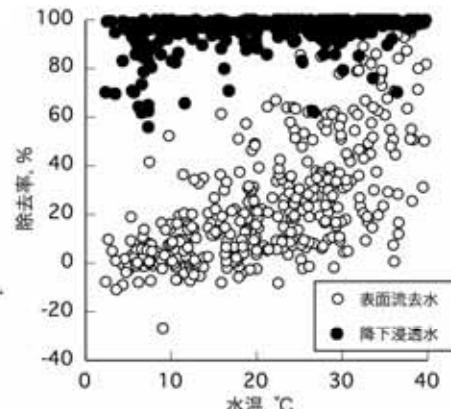


図2 表面流去水と降下浸透水の窒素除去率の温度依存性

各プロットは7日毎の測定値を示す。破線は硝酸性窒素濃度が10mgN/Lとなる除去率。流入水の窒素濃度は8年間の平均で27mgN/L。除去率の求め方は以下のとおり。

$$\text{除去率} = (\text{流入水の窒素濃度} - \text{流出水の窒素濃度}) / \text{流入水の窒素濃度}$$

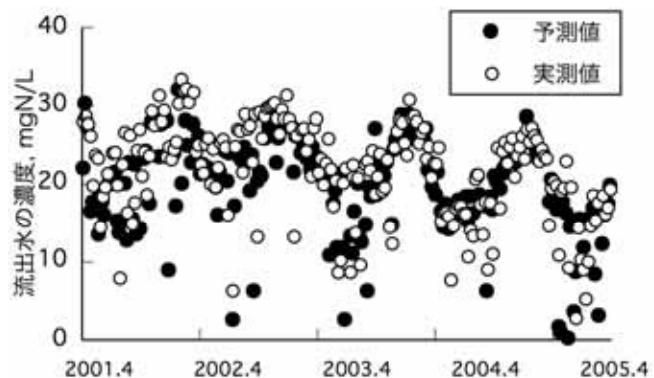
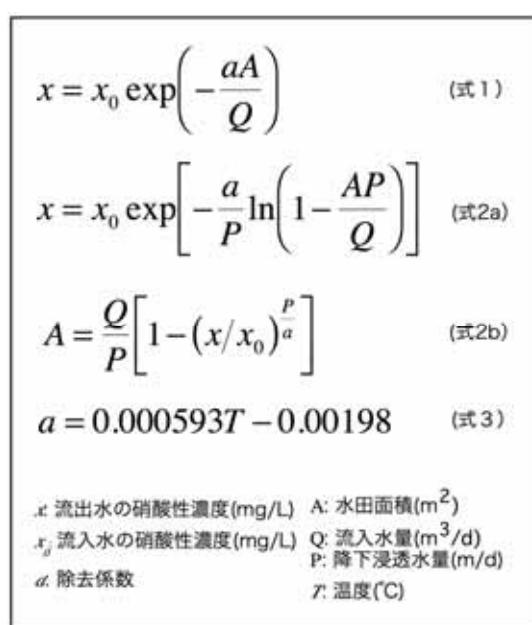


図3 表面流去水の硝酸性窒素濃度の推定値と実測値の比較

[その他]

研究課題名: 地形・地目連鎖(海岸砂地-水田低地-茶園台地)系を活用した環境負荷物質除去技術の開発に関する研究

予算区分: 指定試験

研究期間: 1999~2005年度

研究担当者: 高橋智紀, 新良力也(中央農研), 前田守弘(中央農研), 杉浦秀治, 渥美和彦(静岡県農林大学校), 宮地直道(日本大学)

発表論文等:

- 新良ら(2005)土肥誌:76, 901-904