

地球規模課題対応国際科学技術協力

(生物資源研究分野「生物資源の持続可能な利用に資する研究」領域)

乾燥地生物資源の機能解析と有効利用

(チュニジア共和国)

平成 22 年度実施報告書

代表者：礪 田 博 子

筑波大学・北アフリカ研究センター・教授

<平成21 年度採択>

1. プロジェクト全体の実施の概要

地球環境問題において沙漠化進行は、単に広大な乾燥地域を有する開発途上国の問題ではなく世界的な食糧生産・資源経済基盤を脅かすものになりかねない。また近年、地球環境保全や各国の生物資源の権利等の観点から、生物多様性が重視されている。このような背景から、その支援体制として未利用・荒廃化土壌の環境に見あった適正な植生資源の創出に向け、生物多様性条約に則り乾燥地生物資源の生息環境調査による特性を解明し、有用成分の機能解析および高度利用システムの開発を行う。これにより地球規模での持続的・資源循環的食料システムの開発や沙漠化防止に向けての環境問題解決につなげる。

具体的には、伝承的薬効を有する乾燥地植物から抽出した有効な生理活性成分の機能性メカニズム解析および精製を行い、医薬品あるいは機能性食品原料としての用途開発を行う。さらに、環境に順応した育種を目指し、乾燥地植物の耐塩性や耐乾性の分子生物学研究を行う。さらに、それを支えるエコリージョンシステムの開発として、乾燥地生物の生育基盤である土壌および水について物理化学的・生物学的分析を行い、その量的・質的な確保を目指すべく、土壌劣化の種類・程度をその水分・栄養成分の分析により把握する。

本事業による成果物としては、①乾燥地生物資源の種・生息環境情報、機能性・化合物、期待される利用法などを集約したデータベース、②多様な抽出方法による生物資源画分のバーコード管理ライブラリーなどが考えられ、地球規模での持続的・資源循環的食料システムの開発や、砂漠化防止に向けての環境問題解決につながると期待される。さらに、チュニジアが世界に先駆けた乾燥地生物資源研究拠点となることも期待される。また、学術的知見に基づく知的国際貢献を具現化し、戦略的な技術協力・経済協力の案件形成に結びつく。

2. 研究グループ別の実施内容

生物資源有用性評価グループ（筑波大・京都大）

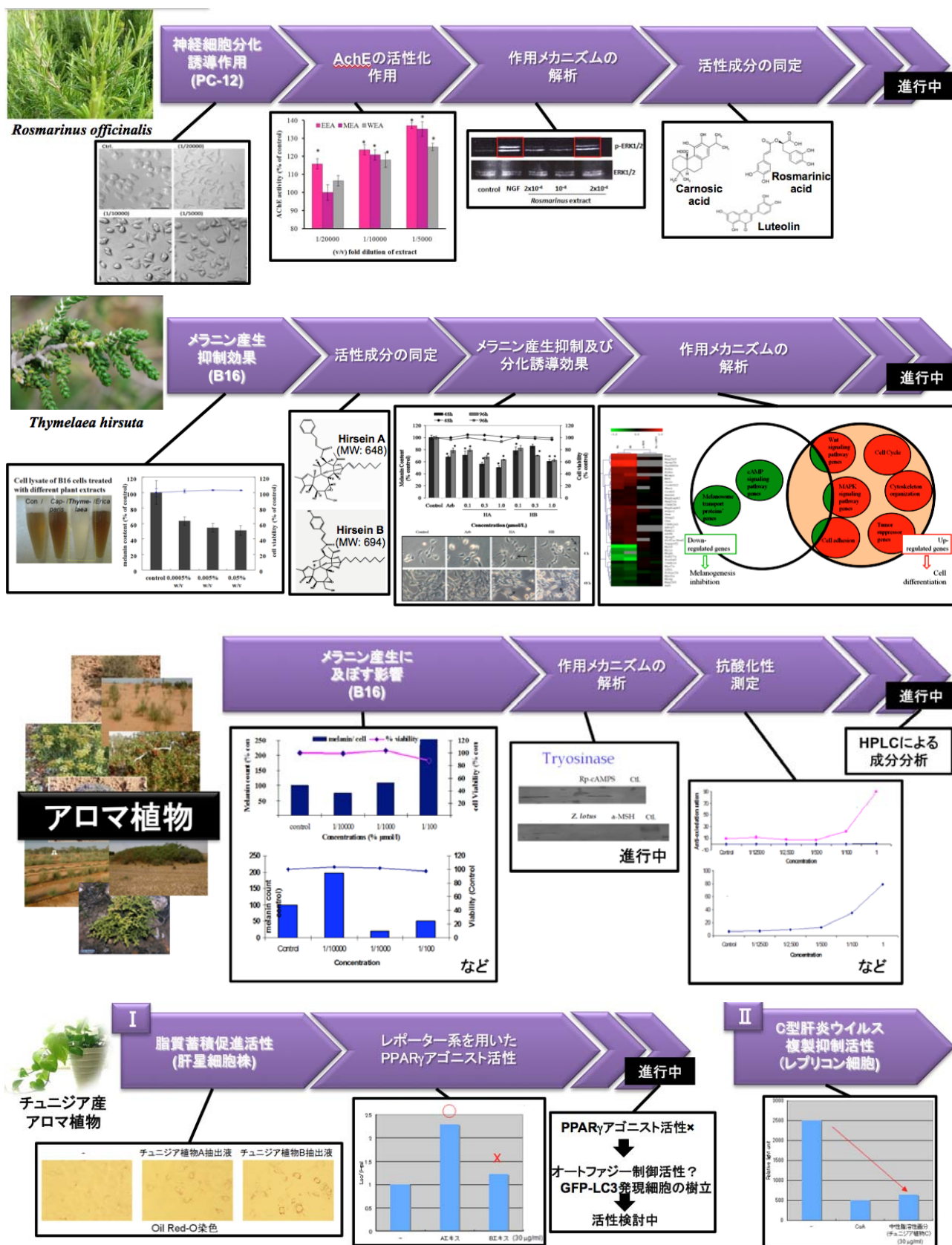
①研究のねらい; オリーブ、薬用植物、耐塩性植物の伝承的薬効、土地利用形態別情報にもとづき対象植物を選定、採集、溶媒抽出、画分調整、機能性評価を行い、機能性を有する生物資源の経済性評価を踏まえた機能成分に関する食品加工技術の導入、食品加工のスケールアップ技術の開発を目指す。

オリーブ、薬用植物、耐塩性植物の伝承的薬効、土地利用形態別情報にもとづき対象植物を選定、採集、溶媒抽出、画分調整、機能性評価を行い、機能性を有する生物資源の経済性評価を踏まえた機能成分に関する食品加工技術の導入、食品加工のスケールアップ技術の開発を目指す。また、耐乾性食用作物の乾燥耐性と適応関連形質に関与する遺伝子座の同定、乾燥耐性と適応関連形質と連鎖する分子マーカーの解析を行い、乾燥地植物の育種技術の向上を図る。研究成果から得られたデータを統合化するデータベースの枠組みの設計を行う。

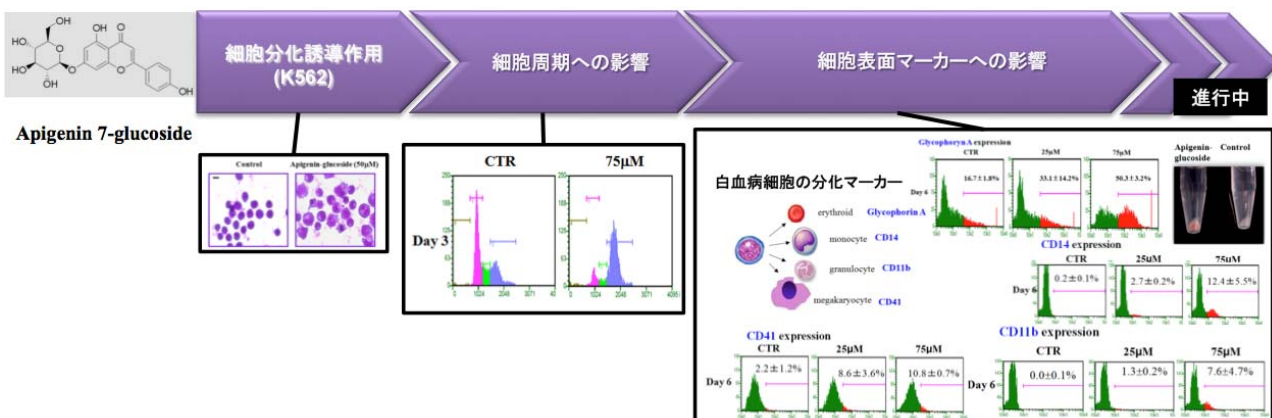
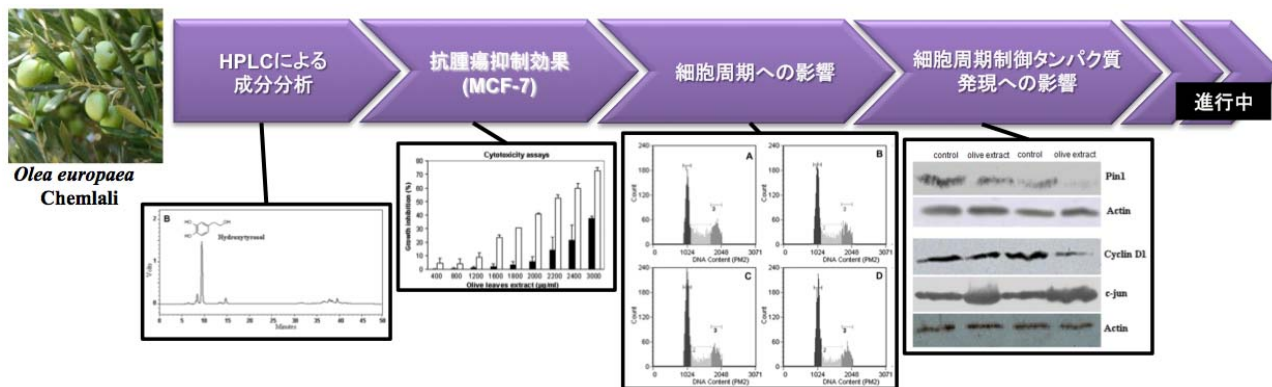
②研究実施方法;

- ・ 有用生物資源の機能性評価; チュニジアに生育する生物資源のうち、地域特有の伝承薬草材料に用いられている植物等を中心に、抗酸化作用を持つ物質のスクリーニングを行った。今年度購入した吸光蛍光プレートリーダーによりアレルギー、神経疾患（アルツハイマー病など）、癌などに

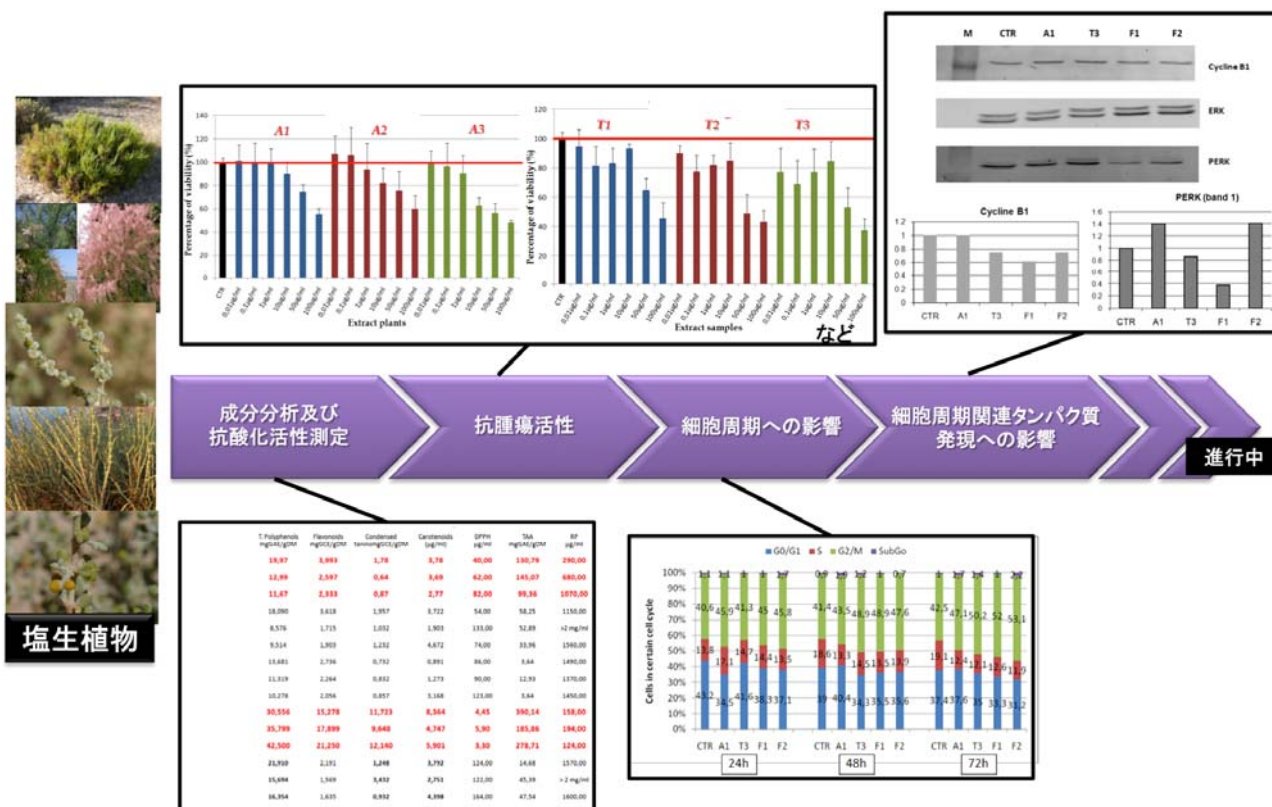
有効な生理活性成分のスクリーニングを行うと同時に、遺伝子レベルで評価するための有効成分の抽出・同定を行う。搬出した成分が各種病症機構の細胞情報伝達系にどのような影響を及ぼすかも踏まえて調べた。



【図 1. アロマ植物の機能性評価】



【図 2. オリーブの機能性評価】



【図 3. 塩生植物の機能性評価】

・伝統的薬効にもとづいた有効生物資源の選定；チュニジアのスファックス，メドニン，ジェルバ周辺を対象に北アフリカの食薬資源に関する民間伝承的情報および当該物の植物学的情報（採取地，採取時期，使用部位，使用形態）に関して、有用植物（オリーブ，薬用植物，耐塩性）に関する民間伝承の聞き取り・観察を実施した。一般家庭，香辛料商，村落の長老，呪術師，産婆を現地調査対象として行った。その結果、有用植物の民衆的利用法の発見及び民衆に伝わる新たな有用植物の発見を得られた。

1 生物資源有用性評価

1-1 伝承的薬効にもとづいた有効生物資源の選定

①2010年度の活動報告

1. 調査期間：2010年12月13日～2011年1月8日
2. 受け入れ機関：CBS, IRA
3. 調査地：チュニジア南部（スファックス，マハレス，アガーレブ，ケルケナ諸島，メドニン，タタウィーン，ジェルバ島）
4. 調査内容：調査地における有用植物（オリーブ，薬用植物，耐塩性）に関する民衆的利用法および当該物の植物学的情報（採取地，採取時期，使用部位，使用形態）に関する聞き取り・観察の人々
5. 調査協力者：農業従事者，漁業従事者，主婦，長老，香辛料商，薬剤師
6. 調査結果の一例：表1参照

②2011年度の活動予定

1. 伝承情報と機能性情報の統合的データベースの構築
2. 植物学分野とのフィールドワーク地等情報の共有、フィールドの選定
3. CBBC, IRAをカウンターパートとして、中西部（カスリーン，ハイドラ等），南部（ガベス，トズール，ドゥーズ等）で、本年度と同内容のフィールドワークを網羅的に実施

表1

植物	主な効能	服用方法
A	熱冷まし	葉を煎じて茶として飲用
B	咳止め	葉を煎じて茶として飲用
C	ストレス緩和	葉を煎じて茶として飲用 エッセンシャルオイルを香水・クリームとして肌に塗布
D	料理の薬味	乾燥：サラダに、生：パスタに

調査風景



2010.12.27 タタウィーン・長老



2010.12.31 ジェルバ・ユダヤ人香辛料商

③当初の計画（全体計画）に対する現在の進捗状況；「有用生物資源の機能性評価」および「伝統的薬効にもとづいた有効生物資源の選定」は当初の計画の通りに進行中である。

④カウンターパートへの技術移転の状況；JICA 短期研修を中心に導入機材に関するトレーニングや IRA と CBS と CBBC にバイオアッセイと作用メカニズム解析の技術移転を行った。

生産基盤調整グループ

①研究のねらい；アルカリ塩類集積のリスクの高い地域における堆積物を活用した安定的・持続的な生産環境の改善方法を検討する。水資源利用における環境安全性のリスク評価を行い、有用生物資源生産のための量的・質的水資源の確保技術の開発を目指す。

有用生物資源が生息する土壌、水、植物生態系の特徴についての調査を実施する。水は、降雨特性や

大気環境などの水文データと地表水や地下水などに関する資源データの収集と水利用の循環について調べる。土壌は、物理性、化学性、微生物等の物性および地形・地質等に関する特異性について調べる。植物生態系は、土壌、水条件と関連付け植生の種類、分布、量などの特徴を調べる。

乾燥地生物資源(オリーブ、薬用植物、耐塩性植物)の生産のための地域環境に適合した高度水利用技術および安定的・持続的な生産環境の改善方法の開発

②研究実施方法;

・異なる気候条件下における統合水環境（地下水－地表水連続系）の比較解析；地下水、地表水の電気伝導度(EC)、水温等の現地観測、水サンプリング、地下水の水位観測、地表水の流量観測、水サンプルの無機溶存成分、水素・酸素安定同位体等分析、地表水による地下水涵養量の推定、降水サンプラー、気象観測装置等の設置を行った。



・有用生物資源生産のための量的・質的水資源の確保技術の開発およびアルカリ塩類集積のリスクの高い地域における堆積物を活用した安定的・持続的な生産環境の改善方法の検討；本年度は主要ダムの一つである Joumine ダムにおいて深淺測量や堆砂サンプリングおよび分析、水質分布調査などを開始した。これらの現地観測を継続して行い、現地の状況の概略を把握できた時点で、次年度以降は貯水池内での濁水挙動を詳細に把握するために数値シミュレーションモデルを適用し、観測結果の再現を試みる。シミュレーションが完成したらそれを用いて具体的な堆砂軽減対策を検討する。

・チュニジア共和国 Joumine 貯水池の堆砂過程のモデル化；本研究の目的は Joumine 貯水池の堆積過程と底質化学組成の季節変化を明らかにし、農業等への利用可能性を検討することである。現在まで、土砂運動を再

現するために、その基礎となる三次元流動モデルを、CIP-soroban 法にもとづき構築した。現時点では Joumine 貯水池の流入・流出データが入手できていないので、類似の形状を持つセケ宿貯水池において、水温成層の形成過程を検証したところ右図のように良好な結果を得た。

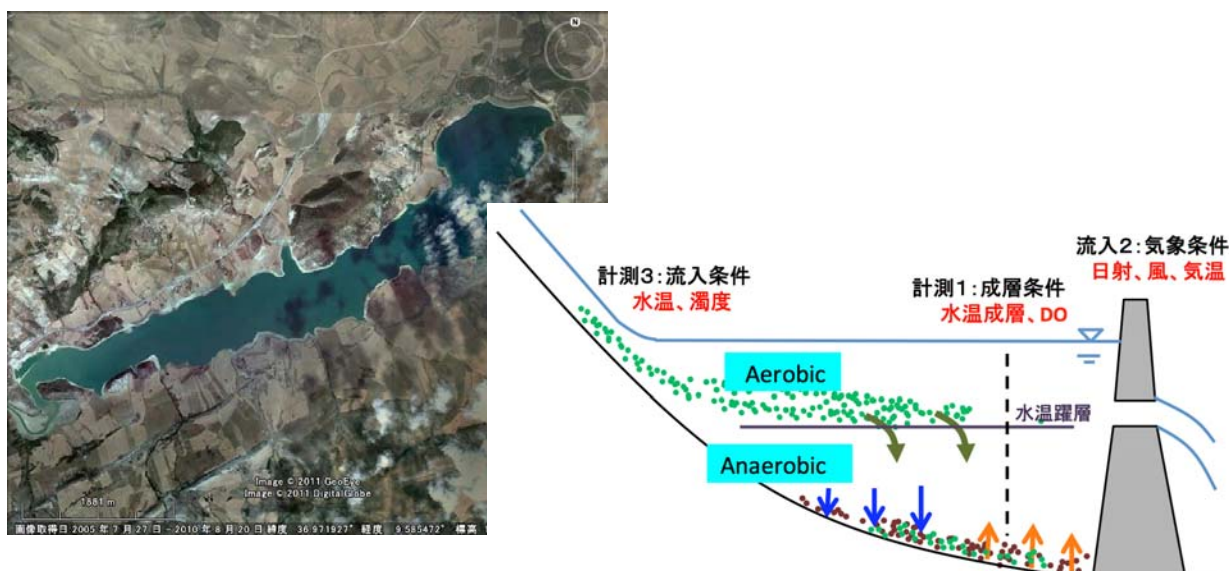


図 4.チュニジア Joumine ダムをモデルにした貯水池管理のための三次元数値モデルの作成と摘要

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況;「異なる気候条件下における統合水環境(地下水ー地表水連続系)の比較解析」、「有用生物資源生産のための量的・質的水資源の確保技術の開発およびアルカリ塩類集積のリスクの高い地域における堆積物を活用した安定的・持続的な生産環境の改善方法の検討」および「チュニジア共和国 Joumine 貯水池の堆砂過程のモデル化」は当初の計画の通りに進行中である。

④カウンターパートへの技術移転の状況;JICA 短期研修を中心に導入機材に関するトレーニングおよび ENIS と INAT に対する技術移転を来年度に行う予定。さらに、平成23年度には JICA 長期研修生(博士課程)を受け入れ、技術移転を活性化する予定。

育種方法開発グループ (筑波大)

①研究のねらい;ソルグムをモデルとした耐乾性食用作物の乾燥耐性と適応関連形質に関与する遺伝子座の同定、乾燥耐性と適応関連形質と連鎖する分子マーカーの開発を行うとともに遺伝子解析を行う。耐乾性食用作物の乾燥耐性と適応関連形質に関与する遺伝子座の同定および乾燥耐性と環境適応形質と連鎖する分子マーカーの開発

②研究実施方法;

・ソルガムの開花期を制御する QTL の同定; ソルガム・コアコレクションの連鎖不平衡解析により、染色体に散在する 5 個の QTL を検出した。SSR(Simple Sequence Repeats)マーカーを用いた遺伝解析により、自然日長での開花期に関与する 3 個の QTL と 12 時間日長での開花期に関与する 1 個の QTL を検出した。第 8 染色体の QTL は自然日長と短日日長での開花期に関与する。

・ソルガムの耐塩性検定法の確立;ソルガムの塩類耐性検定法を確立した。ソルガム・コアコレクションの品種変異を評価し、耐性強品種を選出した。

Chr	QTL	Marker	Mapping population	Analysis
1	5	Xtxp58, Xtxp61, Xtxp75, Xtxp279, Xtxp302	Core collection, 45 accessions under controlled conditions of photoperiod	Linkage disequilibrium
2	6	Xtxp56, Xtxp297, Xtxp13, Xtxp298, Xtxp100, Xtxp315	Core collection, 45 accessions under controlled conditions of photoperiod	Linkage disequilibrium
4	4	Xtxp51, Xtxp59, Xtxp27, Xtxp212	Core collection, 45 accessions under controlled conditions of photoperiod	Linkage disequilibrium
5	3	Xtxp159, Xtxp312, Sb3152 and Sb3163	Core collection, 45 accessions under controlled conditions of photoperiod , F2 population	Linkage disequilibrium, linkage analysis
6	1	Xtxp10	45 accessions under controlled conditions of photoperiod	Linkage disequilibrium
7	1	Sb4143, Sb4145	F2 population	linkage analysis
8	1	Sb4366, Sb4528	F2 population	linkage analysis

表2. ソルガムの開花期を制御する QTL の同定

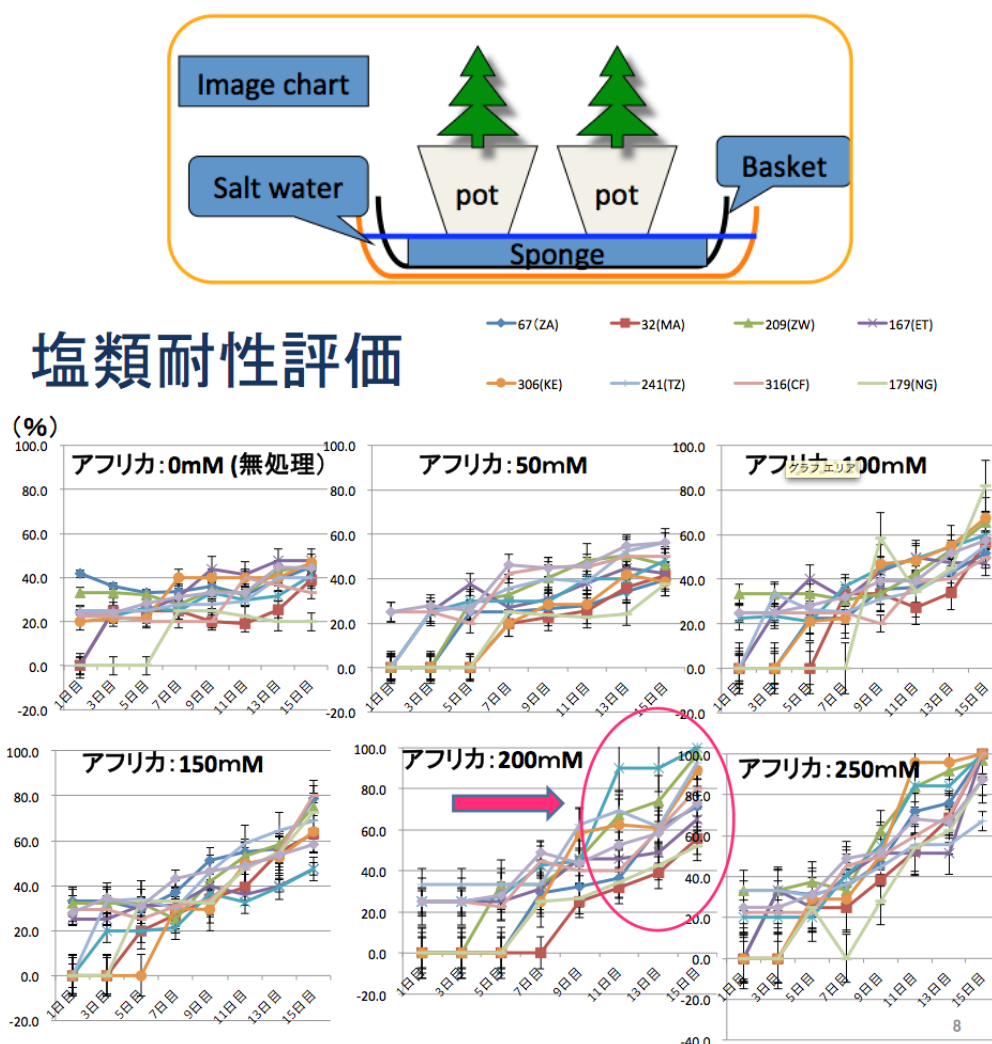


図 5. ソルガムの塩類耐性評価のプロトコールと結果

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況;「ソルガムの開花期を制御する QTL の同定」および「ソルガムの耐塩性検定法の確立」は当初の計画の通りに進行中である。

④カウンターパートへの技術移転の状況;平成23年度にはJICA長期研修生(博士課程)を受け入れ、技術移転を活性化する予定。

製品化技術開発グループ(筑波大)

①研究のねらい;地域特有の伝承薬草材料に用いられている植物等を中心に、生理活性成分のスクリーニングを行う。植物採集、バイオアッセイ・文献情報収集によって、これまで得られた情報群をもとにデータベースをチュニジアと共同で作成する。また、スーパーマスコロイダーによりオリーブオイル・ローズマリーエッセンシャルオイルのエマルジョン作成を検討し、製品の市場調査計画作成も同時に行う。乾燥地および半乾燥地におけるオリーブ由来の副産物の抗酸化物質等の食品・医薬品として利用価値の高い

生物マテリアルの有効利用方法の開発を行う。オリーブ副産物の有効利用方法の開発を行うと共に、ナノエマルジョン、マイクロ・ナノ粒子等の食品・医薬品として利用価値の高い生物マテリアルの有効利用方法の開発を行う。

②研究実施方法；

・食品加工技術の開発；ポリフェノールの抗酸化機構と物理化学特性の関係の解明および食用途展開を目指して、オリーブに含まれる代表的ポリフェノールであるオレウロペインの油水界面特性を検討した。

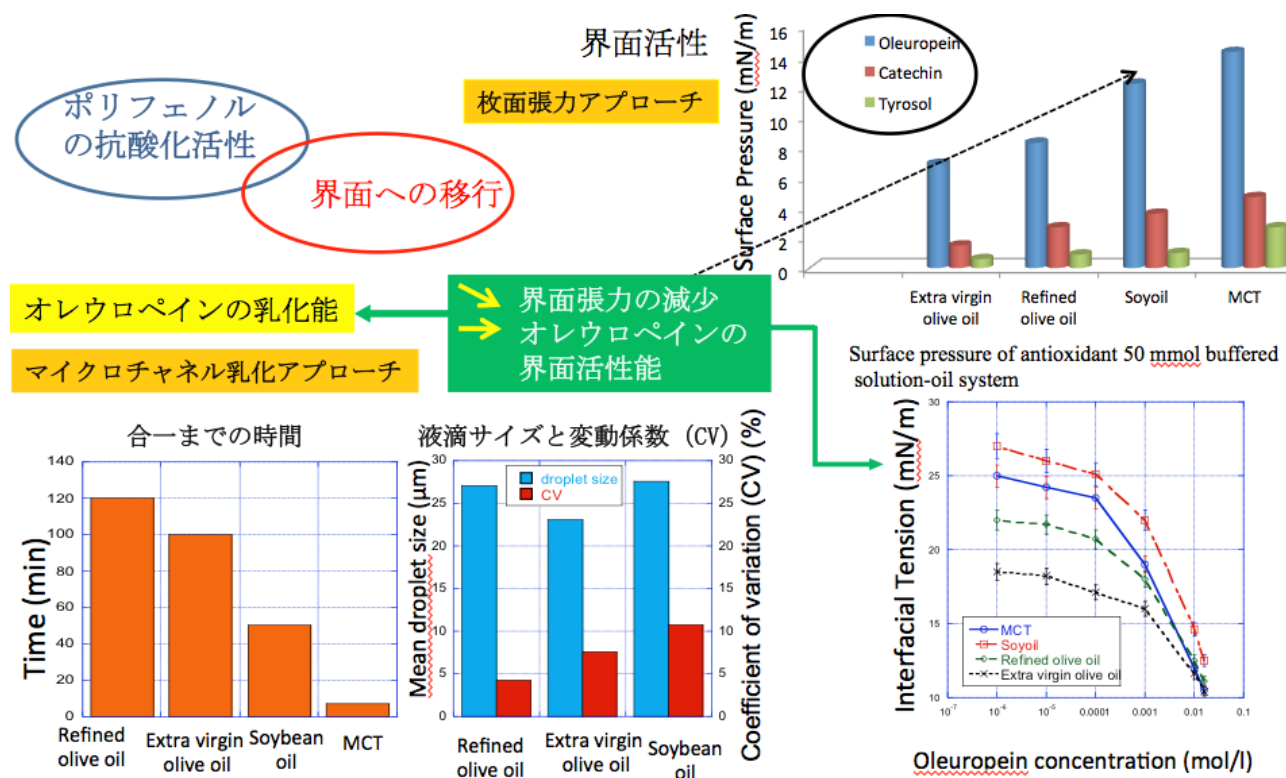
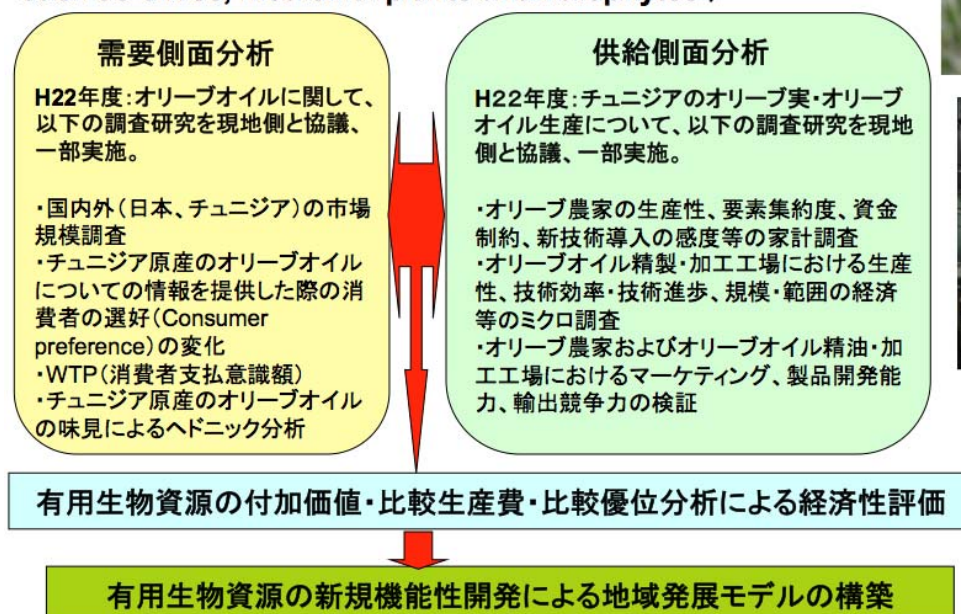


図 6. 油水界面におけるオレウロペインの界面特性

- ・ 有用植物の経済性評価；需要側面分析として、H22 年度ではオリーブオイルに関して、調査研究を現地側と協議および一部を実施した。

5-1 有用植物(オリーブ, 薬用植物, 耐塩性植物)の経済性評価 (5-1 To assess economic efficiency of useful bio-resources such as olives, medicinal plants and halophytes)



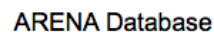
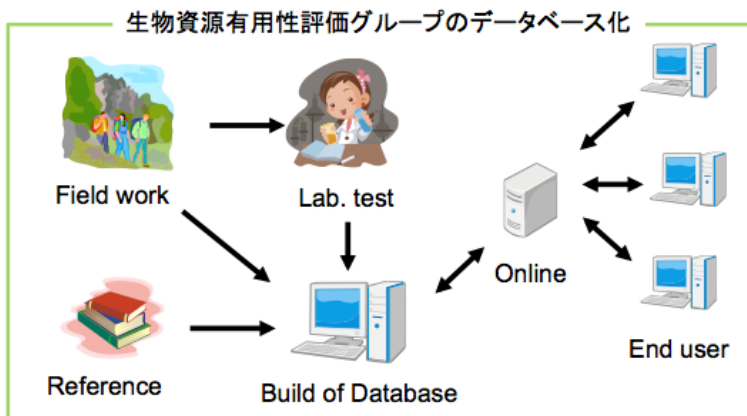
③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況;「食品加工技術の開発」および「有用植物の経済性評価」は当初の計画の通りに進行中である。

④カウンターパートへの技術移転の状況;平成23年度にはJICA長期研修生(博士課程)を受け入れ、技術移転を活性化する予定。

データベース構築グループ(筑波大)

①研究のねらい;耐乾性食用作物の乾燥耐性と適応関連形質に関与する遺伝子座の同定、乾燥耐性と適応関連形質と連鎖する分子マーカーの解析を行い、乾燥地植物の育種技術の向上を図る。研究成果から得られたデータを統合化するデータベースの枠組みの設計を行う。チュニジア産の生物資源有用性評価の結果をデータベース化する。さらに、有用生物資源の抽出・画分のライブラリーを構築する。

②研究実施方法;データベース枠組みの設計として、入力項目(植物種、抽出物、環境情報)、データ仕様の策定、2次元バーコードの利用によるデータ入力の簡略化の検討、モデルデータを用いた入力・運用試験、塩生植物(CBBC)、サンプリング地におけるGISデータ(ENIS)などを行った。さらに、バーコード管理ライブラリーの運営体制の構築においては、植物サンプル、抽出物の保存・管理方法の検討などを行った。



<http://db.arena.tsukuba.ac.jp/arena/logon.do>

[illegible]

研究によって得られた成果は
ARENAデータベースに集約される。

図 7. データベースの構築

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況;「食品加工技術の開発」および「有用植物の経済性評価」は、チュニジア現地の政変により現地調査及び現地のデータベースグループの打ち合わせが予定より遅れている。

④カウンターパートへの技術移転の状況;平成23年度にはJICA長期研修生(博士課程)を受け入れ、技術移転を活性化する予定。

3. 成果発表等

(1) 原著論文発表

① 発表総数(国内 0 件、国際 3 件):

② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0 件、国際 3 件)

③ 論文詳細情報

1. Villareal M., Han J., Yamada P., Shigemori H., Isoda H.: Hirseins inhibit melanogenesis by regulating the gene expressions of Mitf and melanogenesis enzymes, *Experimental Dermatology*, 2010, 19, 450–457.
2. Tsolmon S., Nakazaki E., Han J., Isoda H.: Apigetrin induces erythroid differentiation of human leukemia cells K562: Proteomics approach, *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011, (in press).
3. Motojima H., Villareal M., Han J., Isoda H.: Microarray analysis of immediate-type allergy in KU812 cells in response to fulvic acid, *Cytotechnology*, 2011, (in press).

(2) 特許出願

① 本年度特許出願内訳(国内 0 件、海外 0 件、特許出願した発明数 0 件)

② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0 件、海外 0 件)

4. プロジェクト実施体制

(1) 「生物資源有用性評価」グループ

- ① 研究グループリーダー: 磯田 博子 (筑波大学・北アフリカ研究センター・教授)
: Sami Sayadi (CBS・教授)

② 研究項目

・乾燥地生物資源(オリーブ、薬用植物、耐塩性植物)の有用成分の機能性およびその生息環境の解析

(2) 「生産基盤調整」グループ

- ① 研究グループリーダー: 辻村 真貴 (筑波大学・准教授)
: Mohamed Ksibi (ENIS・教授)

② 研究項目

・乾燥地生物資源(オリーブ、薬用植物、耐塩性植物)の生産のために、地域環境に適合した高度水利技術や安定的・持続的な生産環境の改善方法の開発

(3) 「育種方法開発」グループ

- ① 研究グループリーダー: 奥野 員敏 (筑波大学・教授)
Moncef Harrabi (INAT・教授)

② 研究項目

- ・分子マーカーを活用した耐乾性食用作物の育種方法の開発

(4)「製品化技術開発」グループ

- ①研究グループリーダー： 中嶋 光敏 (筑波大学・北アフリカ研究センター・教授)
： Chedly Abdelly (CBBC・教授)

②研究項目

- ・乾燥地生物資源(オリーブ、薬用植物、耐塩性植物)の利用法・製品化に関する技術の開発

(5)「データベース構築」グループ

- ① 研究グループリーダー： 礪田 博子 (筑波大学・北アフリカ研究センター・教授)
： Mohamed Neffati (IRA・教授)

②研究項目

- ・乾燥地生物資源(オリーブ、薬用植物、耐塩性植物)に関するライブラリーを含む統合データベースの構築

以上