

地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)

(環境・エネルギー分野「低炭素社会の実現に向けたエネルギーシ
テムに関する研究」領域)

「ボツワナの乾燥冷害地域における ヤトロファ・バイオエネルギー生産のシステム開発」

(相手国： ボツワナ共和国)

国際共同研究期間*1

平成24年4月1日から平成29年3月31日まで

JST側研究期間*2

平成23年6月1日から平成29年3月31日まで

(正式契約移行日 平成23年4月1日)

*1 R/D に記載の協力期間

*2 開始日=暫定契約開始日、終了日=R/D に記載の協力期間終了日又は当該年度末

平成26年度実施報告書

代表者： 明石 欣也
鳥取大学 農学部 生物資源環境学科 生物資源科学・准教授
<平成24年度採択>

I. 国際共同研究の内容 (公開)

1. 当初の研究計画に対する進捗状況

項目	H24年度	H25年度	H26年度	H27年度	H28年度 (12ヶ月)
1. ボツワナ乾燥冷害気候に適合したICT農法の開発 (担当：琉球大・理研・ボツワナ農務省・ボツワナ大学) ・気象観測データモニタリングシステムの確立 ・計測データに基づき冷害を回避し乾燥を凌駕する農法の開発 ・圃場生物叢・ヤトロファ分子プロファイリングと、バイオ・化学マーカー探索 ・環境、土壌生物叢・遺伝資源データを搭載したデータベース構築					
2. 乾燥冷害耐性のヤトロファ品種の分子ゲノム育種 (担当：鳥取大・琉球大・理研・ボツワナ農務省) ・ボツワナ固有系統と新規導入系統の生理特性と生産性評価 ・ボツワナ固有系統を識別する分子マーカーの作出 ・ボツワナ植物遺伝子資源を利用した組換えヤトロファの作出とストレス耐性評価					
3. ヤトロファ油脂およびBDFの物理化学特性の解析 (担当：ボツワナ大・琉球大・鳥取大・理研) ・ボツワナ固有系統の油脂成分分析 ・ヤトロファ毒性成分の分析 ・ヤトロファBDFの収率および燃焼特性の分析					

<p>4. 非油脂バイオマスの物理化学特性および変換技術の研究 (琉球大・ボツワナ農務省・理研・鳥取大)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ヤトロファ非油脂バイオマスおよびヤトロファ炭の収量および物理化学的特性の解析 ・土壌へのヤトロファ炭の施用効果の解析 ・ヤトロファ非油脂バイオマスのエネルギー等利用技術の開発 					
<p>5. ヤトロファ・バイオマス事業の社会・経済・環境評価 (ボツワナ大・鳥取大・琉球大・ボツワナ資源省)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ヤトロファ事業のLCA分析 ・ヤトロファ事業の社会経済性およびエネルギー収支の分析 					

2. プロジェクト成果の達成状況とインパクト

(1) プロジェクト全体

- ・プロジェクト全体のねらい、当該年度の成果の達成状況とインパクト等

ボツワナが有するヤトロファ固有種の遺伝的多様性を評価するため、次世代シーケンスによるゲノムDNAの一塩基多型型 (SNP) を探索したところ、各系統を特徴付けるそれぞれ 51~61 万か所の SNP または Indels (挿入または欠失) 多型が抽出され、ボツワナ自生ヤトロファ系統が、当初の予測より大きい遺伝的多様性を有することが示された。また、ジャトロファ分子育種の従来法では、形質転換体からの発根誘導が律速段階であり効率が低い問題があった。そこで培養諸条件を再検討することにより、発根誘導期間を 2 ヶ月程度短縮し、シュート高 1-2 cm の小シュートから、処理後のわずか 2 週間後に高効率で発根を行う技術構築に成功した。これら一連の技術を適用し、ボツワナ由来の優良ヤトロファ系統候補である JK-01 系統に、トレハロース生合成遺伝子 *TPSP*、及び野生種スイカ由来転写因子 *CLZFB1* を導入した結果、それぞれの遺伝子について 21 系統と 10 系統の遺伝子組換えヤトロファ株を得た。また PCR 試験の結果、これらのヤトロファ株の全てにおいてゲノムDNAへの当該遺伝子の挿入が確認された。これら遺伝子組換えヤトロファ株について、培養土への移植と低湿度環境への順化を行っており、今後は機能解析による優良系統の選抜と、ボツワナでの現地試験を行う予定である。

2014 年度にはヤトロファ化学組成の解析に際し、二つの方向性で日本での実験を進め論文報告まで到達することができた。まず、ヤトロファ残渣バイオマスの新たな利用法として、セルロースを残しつつリグノセルロースの高次構造は崩壊させる半炭化処理プロセスを各種高分子分析法で評価した。また、有毒物質として知られるホルボールエステルも僅か 250℃の低温で化学構造を分解させることを見出すことが出来たため、土壌改良剤としての圃場散布から、将来的にセルロースやリグニン資源を利活用するバイオリファイナリー原料とできる可能性を論じた (PLoS One 2014)。また一方で、ヤトロファ初期成長時の代謝動態解析についても *Metabolites* 誌に報告した。次年度はこれら二つの技術を融合し、半炭化バイオマスを実験用土壌に混ぜ込み、土壌改良効果およびヤトロファ生育促進が可能となるか調査す

る予定である。

DAR 実験圃場のヤトロファに関し、2013 年 11 月雹と突風に見舞われ収穫前の果実は全滅した。その後、樹体は順調に回復し 2014 年 3 月に再度開花・結実したが 6 月に寒波に見舞われ収穫には至らなかった。2014 年 8 月に地際から全個体を剪定し、剪定枝は簡易型炭化装置でバイオチャーを製造した。8 月以降に灌水用水が不足し、十分な灌水は行えず、成育はやや遅れ気味で、2015 年 2 月の段階で開花は確認されていない。過去 2 年間の栽培管理に関する成果を基礎に、「Jatropha Cultivation in Botswana」を作成した。今後はこのマニュアルを修正しつつ、最終年度には完成版を作成予定である。

(2) 研究題目 1 乾燥冷害地域に適合したヤトロファ系統の分子ゲノム育種

①研究題目 1 の研究のねらい

ボツワナ各地に存在するヤトロファ固有種の生産性およびストレス耐性を評価し、乾燥冷害耐性に優れた系統の選抜育種を行う。また、ボツワナ中央部のカラハリ砂漠に自生する野生植物等に由来するストレス耐性遺伝子を導入した形質転換ヤトロファを作出し、乾燥ストレス下での生産性を強化したヤトロファ品種を確立する。

②研究題目 1 の研究実施方法

まず初めに種子収穫量が多く実用品種として用いられているインドネシア由来のヤトロファ品種 IP-2P をモデルとし、次世代シーケンサーによる遺伝子発現情報を定量化し代謝地図を作成する。次に、ボツワナ自生 80 系統を分別するための分子マーカーを探索し、自生系統の系統関係についての情報を収集する。この情報をもとに、自生系統群の生理・生産性との相関を調査する。さらに、次世代シーケンサー等を用いてボツワナ自生系統の EST 等の遺伝子情報を包括的に取得し、生理・生産性との相関性から、乾燥冷害下での生産性に寄与する遺伝子座位を探索同定し、系統選抜を効率化する技術確立をおこなう。さらに、アグロバクテリウム法によるヤトロファへの遺伝子導入手法を開発しその効率化を図ると共に、根伸長促進遺伝子など、ヤトロファの生産性増強遺伝子の導入を行う。

③研究題目 1 の当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

前年度までに、1) 次世代シーケンサーによるヤトロファ果実登熟過程の遺伝子発現情報の定量化、2) ウェブ上での代謝地図閲覧システムの開発、3) ボツワナのヤトロファ自生系統のパスポートデータ整備と Gaborone のヤトロファ実験農場における試験栽培の始動、4) RAPD 分子マーカーによる系統判別手法の開発、5) mALS-bys 選抜系と可視化マーカーによるヤトロファ組換え体の選抜効率の改善、6) ろ紙培地および減圧処理によるヤトロファへの遺伝子導入効率の改良、7) 植物生長調整物質チジアズロンによる一段階でのヤトロファ・シュート再分化法の確立を行った。また、このようにして改良した一連の技術を利用して、ボツワナ乾燥冷害地域でのヤトロファのストレス耐性を強化するために、8) 野生種スイカ由来の根伸長促進因子である CLZFB1 転写因子や、トレハロース生合成遺伝子を挿入したバイナリーベクターを作出し、ヤトロファ外植片への形質転換を行っていた。当該年度は、これらの状況を踏まえ、以下の研究開発成果を得た。

前出の方法よりさらに効果的な分子マーカーを作製するために、ゲノム DNA の一塩基多型型 (SNP) を探索した。具体的には、5 系統のボツワナ自生ヤトロファを次世代シーケンサーによる全ゲノムリシー

ケンス解析し、参照配列のフィリピン系統と配列が異なる配列を抽出した。その結果、各系統を特徴付けるそれぞれ 51~61 万か所の SNP または Indels (挿入または欠失) 多型が抽出され、ボツワナ自生ヤトロファ系統が、当初の予測より大きい遺伝的多様性を有することが示された。それら多型のうち、ホモ接合型の SNPs/Indel は 16-23 万であった。そこで既報の連鎖地図及び分子マーカーの情報を基に、これらの配列を染色体ごとに分類した。そして PCR により SNPs を認識可能な領域を探索し、11 本のジャトロファ染色体を網羅する SNP を合計 106 領域選抜した。この配列を基に SNPs プライマーを作製し、ボツワナ農務省に技術供与すると共に、ボツワナ現地における自生系統の分類分けに着手した。

ジャトロファの形質転換体の作出に当たっては、遺伝子導入・組換え体の選抜とシュート再分化の後に、別種の植物ホルモンを作用させて発根を誘導し、次いで寒天培地から土壌へ移植し低湿度環境下に順化させる必要がある。これらの過程のうち、従来の発根誘導技術においては、高さ 5 cm 程度のシュートが必要であり、ここまで生長させるのに長期間の培養 (通常 2-3 ヶ月) を必要としていた。加えて、通常の生育培地にはサイトカイニンが入っているため、シュートの伸長が遅延する問題があった。そこで、ボツワナ由来の優良ヤトロファ系統候補である JK-01 系統を用い、発根誘導条件の最適化実験を行った。まず植物ホルモンを含まない培地での生育を試みたが、期待とは逆に著しい生育不良がみられた。そこで次に、培地成分の抜本的な見直しを行った結果、基本培地成分を MS から WPM に変更することで、発根誘導が顕著に促進されることを見出した。またオーキシン効果を促進する化合物としてフロログルシノールを添加することにより、発根効率をさらに向上した。これら両者の改変を組み合わせることで、シュート高 1-2 cm の小シュートにおいて、処理後のわずか 2 週間後に 65% のシュートで発根が認められた。すなわち、発根誘導期間を 2 ヶ月程度短縮すると共に、その誘導効率を飛躍的に増大することができた。

そこでこれら一連の改良法を適用し、ボツワナ由来の優良ヤトロファ系統候補である JK-01 系統に、トレハロース生合成遺伝子 *TPSP*、及び野生種スイカ由来転写因子 *CLZFB1* を導入した結果、それぞれの遺伝子について 21 系統と 10 系統の遺伝子組換えヤトロファ株を得た。また PCR 試験の結果、これらのヤトロファ株の全てにおいてゲノム DNA への当該遺伝子の挿入が確認された。加えて、バイオディーゼル成分として好適なオレイン酸含量を増大させるため、 $\Delta 12$ 脂肪酸デサチュラーゼの活性を RNAi 技術で抑制させる形質転換ジャトロファを合計 11 系統作製した。これら遺伝子組換えヤトロファ株について、培養土への移植と低湿度環境への順化を行っており、今後は機能解析による優良系統の選抜と、ボツワナでの現地試験を行う予定である。

④研究題目 1 のカウンターパートへの技術移転の状況

これまでに、ヤトロファ植物体からのゲノム DNA の調整法、RAPD によるヤトロファ自生種の系統分別手法、ヤトロファの遺伝子組み換え実験について、ボツワナ側に対し技術講習を行った。今年度はボツワナ研究者側に 1) 組換えタンパク質の発現及び精製方法、2) 次世代シーケンサーによる RNAseq 解析、3) 二次元電気泳動によるタンパク質の網羅的解析、についての技術研修を行った。二次元電気泳動については、DAR においても引き続き研究が開始される予定であり、高度な技術移管が達成できていると考える。

⑤研究題目 1 の当初計画では想定されていなかった新たな展開

当初計画の遂行に伴い、ヤトロファ形質転換体の作出工程を効率化する様々な技術パッケージの確立

が進んでおり、工程の標準化や大規模化にも対応したノウハウが構築されつつある。これら一連の技術パッケージは、他のヤトロファ育種事業へも適応可能なものであるため、ボツワナ以外の途上国を視野に入れた共同事業等の議論が進んでいる。

(3) 研究題目 2 生産制御のための環境メタ解析

① 研究題目 2 の研究のねらい

ボツワナの農地は日本と比較して有機物が 1/10 程度と貧栄養であり、また半乾燥地のために水供給自体が貴重である。そこでヤトロファ残渣バイオマスを土壌に混ぜることで、保水能向上や貧栄養状態を改善し、土壌生態が豊かになることで宿主の遺伝要因のみならず、環境要因からの生産制御が可能となるかを調査することとした。

② 研究題目 2 の研究実施方法

ヤトロファ残渣バイオマスの有効利用法として、セルロースを残した半炭化処理に着目することとした。適度な熱処理温度を選ぶことで、リグノセルロースの高次構造を壊しつつ、セルロース成分を残すことができる。すると、あたかも綿（主成分はセルロース）のように吸水力を持ちつつ、土壌微生物群集の餌ともなるので貧栄養なボツワナ土壌の改良が可能となるのではと着目した。また、こうした残渣バイオマス投入する前の土壌の化学組成、微生物組成の摂動範囲も基礎データとして保持しておく必要があるため、適時圃場の土壌をサンプリングし、化学プロファイリングは NMR および ICP-OES 法にて、微生物プロファイリングは DGGE（変性剤濃度勾配ゲル電気泳動）もしくは次世代シーケンサー MiSeq により計測評価する。

③ 研究題目 2 の当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

ヤトロファ残渣バイオマスの新たな利用法として、半炭化処理プロセスを各種高分子分析法で評価した。リグノセルロースの高次構造を崩壊させ、一方でセルロース成分を保持するには 250°C の熱処理で十分であることが判明した。また、有毒物質として知られるホルボールエステルも僅か 250°C の低温で化学構造を分解させることを見出すことが出来たため、土壌改良剤としての圃場散布から、将来的にセルロースやリグニン資源を利活用するバイオリファイナリー原料とできる可能性を論じた (*PLoS One*2014)。また、ボツワナ圃場の土壌サンプリングについては 6 時系列分が終了し、これらの試料のうち ICP-OES 法による元素プロファイリングが終了した。

④ 研究題目 2 のカウンターパートへの技術移転の状況

報告書作成時（H26 年 2 月）では見込みとなるが、3 月のボツワナ訪問時に再び、土壌サンプリングと土壌微生物叢からの DNA 抽出法、PCR 条件検討およびそのデータ確認法、DGGE 装置の基本的な操作法についての現地としては 2 度目の研修を行う。

⑤ 究題目 2 の当初計画では想定されていなかった新たな展開

当初計画としては、有機物プロファイリングは携帯型 NIR 法のみを予定していた。しかし昨今、永久

磁石の卓上型 NMR 装置が著しく進歩し、NIR 法よりはスペクトル上の化学構造情報が多く取得できるため、NIR 装置ではなく卓上型 NMR 装置を導入することとした。今年度までに機種選定は終了したため、日本で計測および解析ノウハウを検討後、次年度の終期頃にボツワナへ装置移転させたいと考えている。

(4) 研究題目 3 バイオマス生産を最適化する ICT 農法の開発

① 研究題目 3 の研究のねらい

ボツワナ乾燥冷害環境におけるヤトロファ栽培および子実生産技術を開発するために、気象観測データや土壌水分含量データに基づいた ICT 農法を確立し、栽培マニュアルを作成する。これらのデータに加え、ボツワナ農務省が収集したヤトロファの固有種の位置データ、土壌成分データ、土壌生物叢データを網羅的に表現できる GIS ソフトを共同開発し、ボツワナ乾燥冷害地域におけるヤトロファ農法のモデルを構築する。

② 研究題目 3 の研究実施方法

ヤトロファ圃場の気象データや土壌水分含量をオンタイムで計測する ICT 技術を開発し、それに基づいた栽培管理を行うと同時に観測結果をデータベース化する。また、計測データをボツワナ並びに日本側からも共有できるモニタリングソフトを開発し、ボツワナの気象変化を瞬時に理解する。ボツワナ農務省が蒐集したヤトロファの固有種や 2013 年に新しく蒐集した系統を用いて、光合成速度、蒸散速度、気孔コンダクタンスの環境応答および水分生理的応答と気象観測データを基礎に、灌漑、樹型選定管理、開花収穫管理の最適化を行う。特に、乾燥、低温、強日射などを組み合わせた外的環境が生理的要因に及ぼす影響について解明する。さらに、樹枝剪定に伴い大量に発生する樹枝バイオマスおよび雑草を炭化し、土壌保湿剤として有効利用するモデルと効果を LCA 的に評価する。

③ 研究題目 3 の当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

DAR から供給される灌漑水量が不安定であったが、2014 年 9 月に電気トラブルがあり問題が深刻化した。この打開策として圃場近傍に井戸を掘削し、ポンプ、揚水用タンクおよび灌水用タンク間を繋ぐパイプラインの設置を行った。しかしながら揚水量が想定していたより少なく、DAR 側の設備も復旧していないため灌漑水確保の問題は完全には解消していない。

2014 年冬期に得られた剪定残差を材料に圃場内に設置した垂直・自燃式炭化炉を用いて炭化を行った。収率は 17%(v/v)で、化学性はこれまで琉球大学内で栽培したヤトロファ枝条から作成した炭化物に比べ、高い EC を示した。これは K および Cl⁻含有量が高い事に起因しているが、NH₄⁺や NO₃⁻含有量は低く、栽培中の施肥量が関与している可能性がある。圃場内から採取した風乾土壌にこの炭化物を 3%(w/w)混合した土壌は飽和要水量が畑土のみと比して有意に増加した。

水資源に乏しいボツワナでのヤトロファ乾物生産を増加させるためには、与えた水がヤトロファに吸収される割合と吸収された水が乾物生産に用いられる割合、つまり水利用効率を増大させる必要がある。そこで炭混和による土壌からの蒸発抑制と寒冷紗を用いた日射量低下による植物からの蒸散低減がヤトロファ実生苗の成長にどのような影響を及ぼすかについて、灌水量を 3 段階に変え試験を行った。地面蒸発量は無処理、遮光、炭混和の順で低下がみられ、植物体からの蒸発量を合わせた蒸発散量も同じ

順で低下した。播種後1ヶ月のヤトロファの全乾物重を比較したところ、無処理区は灌水量が変わっても一定であったのに対し、炭混和区は灌水量の低下に伴い低下し、遮光では少ない灌水でも高い乾物生産を示した。与えた水と乾物の比で求めた水利用効率は十分な灌水があれば処理間差はないが、遮光は灌水が少ないほど増加し炭混和は減少した。2013年度、琉球大学で行った試験結果を勘案するに、溶出したイオンが根を加害し乾物生産が低下したと考えられるが、地面蒸発量の低下には炭混和が最も優れており、施用量の検討や現地で入手が可能なバーク堆肥と合わせて施用することでボツワナにおける適した施用法を確立する必要がある。

ポット試験の結果から遮光は水利用効率の上昇に有効であったため、圃場内の32株を対象に遮光と灌水を意図的に止めた無灌水と組み合わせた試験を行った。その結果、萌芽数は遮光により有意に低下したが、これは遮光による日射量の低下が過繁茂時にみられる萌芽抑制と同様の結果をもたらしたと考えられる。分枝数の増加は過繁茂や蒸散量の増加に繋がるため、収量データと合わせて解析することで適切な分枝数を明らかにする。また無灌水個体は有意に新梢長が短くなった。調査開始は雨期の開始と同時期であったが、降雨のみでは成長に十分な水を得られていない可能性が示唆された。冬期前の乾物データと合わせ解析することで灌水の効果が明らかとすることが出来る。

④ 研究題目3のカウンターパートへの技術移転の状況

ヤトロファ固有種の試験栽培に際して、栽培管理手法ならびにバイオマス炭化利用方法の一部を日本側からボツワナ側C/Pに実技指導ならびにマニュアルとして技術移転した。また、2013年1月に導入された携帯型光合成蒸散同時測定装置(LI-6400)を用いてヤトロファの光合成速度、蒸散速度、クロロフィル蛍光の測定方法をC/Pに技術移転した。簡易型気象観測装置の設置方法、携帯ネットワークを用いてインターネットでデータをモニタリングする方法について、C/Pおよびボツワナ国内4箇所の関係団体や機関に対し、技術移転ならびにメンテナンス方法について技術移転した。また、2012年より毎年短期研修で琉球大学へ招致したC/Pにヤトロファの光合成測定・生育調査法、炭化・炭化物評価法および栽培技術の技術移転を行っている。また、適宜日本側の研究進行を紹介するセミナーを開催し、ボツワナ側C/Pへの研究進捗状況と情報共有を行った。2014年9月から本プロジェクト専属の調査員がDAR内に配置されたので、剪定や施肥等の樹体管理、除草や灌水装置の修繕、剪定残差のチップ化等圃場管理、ならびに生育調査に必要な知見を教授した。

⑤ 研究題目3の当初計画では想定されていなかった新たな展開

野生動物が灌漑設備を破壊するケース、また、実験圃場の実験設備の盗難が頻発し、セキュリティーの確保が緊急を要する課題であったが、2013年3月に圃場外壁フェンスを設置し、また供与機材の安全対策のために圃場内に電気柵に囲まれたコンテナハウスを設置して対策を行った。2013年11月28日に突風を伴う降雹が発生し、植物体およびソーラーパネルや観測機器が被害にあった。2015年2月までに故障したカメラ、雨量計、風向計はほぼ復旧したが、土壌温度センサーの不具合は未だ解決していない。他部署との調整もあり、灌漑水が十分に確保できず、予定していた量の灌水が行えていなかった。そのため、新たな井戸の掘削を2014年に行ったが、想定よりも水量が少なく、十分な用水を確保するには至っていない。また、2013年に設置した圃場外壁フェンスの設置状況が悪く、フェンスの傾きなど不具合が起きている。

II. 今後のプロジェクトの進め方、および成果達成の見通し（公開）

南北回帰線付近の発展途上国における循環型エネルギー社会の構築は、地球規模での低炭素社会を達成する上で鍵を握る。ボツワナ共和国においては、国土の乾燥冷害地域におけるヤトロファ・バイオ燃料生産を確立するための科学技術が必須である。本研究では次の3つの戦略、すなわち、(1) 現地の乾燥冷害気候に適応したヤトロファ優良品種の選抜および育種を推進し、特にボツワナの自国生物資源であるヤトロファ固有種を高度利用すること、(2) 現地の極度な乾燥と冷害気候に適応した ICT 農法を開発すること、さらに、(3) ヤトロファ生育と圃場生物叢との相互作用を理解し、ヤトロファ栽培最適化に向けた圃場生物叢制御技術を開発すること、を戦略目標と定めている。ボツワナ側の研究者との効率的な共同活動を進めるために、PDM および PO 活動内容を更に詳細に分割し記述した Action Plan を作成し、ボツワナ側パートナーと共有している。この Action Plan はプロジェクト進捗に合わせて随時更新を行う予定であり、毎年開催される Joint Coordinating Committee に提出し共有している。

乾燥冷害地域におけるヤトロファの安定生産の技術体系を構築するためには、圃場における気象・生物叢・植物生理等の科学的な数値情報をリアルタイムに取得するとともに、変動環境や遺伝特性に合わせて柔軟に栽培管理を行う ICT 農法を確立することが有効と考えている。また、これら現地で取得した情報をデータベース化し、双方向的な公開によりさらなるデータ蓄積を行うことで、ヤトロファのバイオマス生産の最適化をさらに進めるための基盤づくりができると考えている。乾燥地に適合した多収ヤトロファの育種については、当初計画の遂行に伴い、ヤトロファ形質転換体の作出工程を効率化する様々な技術パッケージの確立が進んでおり、工程の標準化や大規模化にも対応したノウハウが構築されつつある。これら一連の技術パッケージは、他のヤトロファ育種事業へも適応可能なものであるため、ボツワナだけでなく、他の途上国を視野に入れた共同事業等の基盤シーズとしても期待される。

本事業はボツワナ自国生物資源に立脚した循環型社会を構築するための技術開発を行うものであるが、将来的にはアジア・アフリカの乾燥地諸国におけるバイオ燃料生産の樹立と、農村部における農工業経済活性化の一例として、技術立脚型モデルを構築し提示できればと考えている。本提案課題の研究成果はボツワナ国内で共有され、これら農園でのヤトロファ栽培に適応される予定である。

III. 国際共同研究実施上の課題とそれを克服するための工夫、教訓など（公開）

(1) プロジェクト全体

・ プロジェクト全体の現状と課題

事業の開始に当たっては、各システムの共同開発に当たって両国の関係者の綿密な打ち合わせや役割分担の決定が必要であるが、本プロジェクトにおいては参画6機関のうち、ボツワナ大学研究者の役割分担の詳細が確定していない状況であった。

・ 各種課題を踏まえ、研究プロジェクトの妥当性・有効性・効率性・自立発展性・インパクトを高めるために実際に行った工夫

上記のボツワナ大学研究者の効果的かつ実質的な参画を図るに当たり、個々の研究者の専門性と、プロジェクトにおいて必要とされる研究項目とのマッチングを図るために、PDM および PO 活

動内容を更に詳細に分割し記述した Action Plan を、ボツワナ側および日本側研究者が共同で作成し、共有した。この Action Plan では研究計画を 24 の研究細目に分割し、この細目を必要に応じてさらに分割して、各細目ごとの目標と方法、担当者を定めている。この Action Plan はプロジェクト進捗に合わせて随時更新を行うこととしている。これら一連の作業により、ボツワナ大学の工学部所属の研究者は Output 3 を主に担うことが規定された。生物学部所属の研究者は、ボツワナ農務省と担当分野において重複することが多く、プロジェクトの主導権を巡り両者間でさや当てが行われることがあった。そこで、大学側の研究者の専門性を調査したところ、主要な大学研究者の専門分野は、植物の重金属応答や、土壌微生物の集成的分析などであり、農務省側と専門性が重複しないことが判明した。そこで現在、これら研究者の研究項目の分担化と明確化について、さらに線引き作業を進めているところである。

- ・ プロジェクトの自立発展性向上のために、今後相手国（研究機関・研究者）が取り組む必要のある事項

ボツワナ側と日本側では、事業を行う上でのスピード感に隔たりがある現状である。ボツワナ側が研究開発分野で国際競争力を強化できるように、今後は時間軸をより重要視した事業展開に取り組む必要があると考える。

(2) 研究題目 1 乾燥冷害地域に適合したヤトロファ系統の分子ゲノム育種

- ・ 相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用。

ヤトロファ改良品種を育種するためには、乾燥冷害地域に適応しているボツワナ固有系統と、異なる形質を持つ第3国のヤトロファとの交配育種の推進も重要と考えている。生物資源のアクセスに係る諸問題があり、多国間でのヤトロファ生物資源の交換はまだ実現していないが、ボツワナ固有系統ジャトロファの諸性質の解明はこれら相互交換の第一歩であるため、論文メディア等での公開を視野に入れて準備を進めている。

- ・ 類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等

プロジェクトにおいて、両国の若手研究者および学生が果たす役割は非常に大きいと考えている。一方、それぞれの若手研究者は、長期プロジェクトにおけるある一時期のみ参画することが多いので、貴重な経験はできるが、個々が成果をまとめ上げにくいという難点がある。参画する若手が短期間で成果をまとめられるよう、また個人的なモチベーションを喚起できるよう、タスクの分割と明確化、またこれらのシステムづくりを進めたく考えている。

(3) 研究題目 2 生産制御のための環境メタ解析

- ・ 相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用。

共同研究も3年目を迎え、相手国側にどのようなタスクが妥当であるかの境界線が見え始めてい

る。本課題2では各種計測とデータ解析が主であり、高額な分析機器や複雑な計算手法を前提とした技術移転は適当でないことが判明した。例えば化学プロファイリングの場合、上述のように永久磁石の卓上型 NMR を現地に導入し、比較的簡単な操作で動かせるよう配慮する方針とした。微生物プロファイリングも現地では DGGE 装置を活用し、より高次元のデータ解析は輸入した土壤の日本で次世代シーケンサー計測を行うこととした。

- ・ 類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等

現地スタッフの意識や機器を正常に動かすためのインフラは、当初の想定以上に日本のそれとギャップがある。日本人の懸命さを実感してもらうためには、日本での長期生活経験をできる機会を増やしていくことが得策と考える。

(4) 研究題目3 バイオマス生産を最適化する ICT 農法の開発

- ・ 相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用。

2012年に移植した、栽培中のヤトロファ系統から子実を収穫するに至っていない。その原因として、当初予定していた灌漑水の供給が不安定で、自然降雨に依存する状況である。専用の井戸を掘り、自動灌水装置を設置したが、タンクに十分な灌漑水が無く、乾燥時期である8月から11月の間のヤトロファの成長が遅れている。

- ・ 類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等

国際共同研究においては、想定外の事案が多々生じるため研究予算の執行に際し柔軟な対応が望まれる。また、日本の精密機械を現地で動かす際、電源が不安定であるため停電回避装置をセットで供与することを望む。更に、ネット環境が悪く、回線の容量やスピードを向上させてほしい。

IV. 社会実装（研究成果の社会還元）（公開）

(1) 成果展開事例

乾燥冷害地域でのヤトロファ育種と栽培に関して得られた研究成果について、本年度は3回の招待講演において紹介した。

(2) 社会実装に向けた取り組み

本事業で得られた、ヤトロファ形質転換体の作出工程を効率化する様々な技術パッケージについて、ボツワナ以外の途上国を視野に、他のヤトロファ育種事業へ向けた共同事業等の打ち合わせが進んでいる。

V. 日本のプレゼンスの向上（公開）

ボツワナの政府系新聞に、常駐する石本長期専門家および小中調整員の顔写真と共に、SATREPS 事業が紹介された。

VI. 成果発表等（公開）

VII. 投入実績（非公開）

VIII. その他（公開）

プロジェクト期間中にボツワナ共和国に機材供与した装置の内、メンテナンスが必要な精密機器が多い。特に、光合成蒸散測定装置は、プロジェクト終了後メンテナンス予算が切れると故障後使用されなくなる可能性がある。そこで、これらを支援する新たなフォローアッププロジェクトを提案したい。厳しい環境で熱帯産のヤトロファ栽培に成功した本 PJ の実績を基礎に、太陽エネルギーが豊富なカラハリ砂漠でボツワナ共和国の食糧とエネルギーの両方の自給率を向上させる再生エネルギー・食糧生産プロジェクトを提案したい。特に、気温と湿度の日変化が厳しい環境をメリットとして捉え、太陽光発電と太陽熱をフルに利用した「水素エネルギー社会」の構築を提案したい。特に、琉球大学が研究している沖縄型植物工場をボツワナ共和国に応用し、南アフリカに依存している食糧供給を自国の産業として発展させたい。特に、気温の日較差の大きさは果菜類の糖度向上には有利であり、「世界一甘いスイカ、メロン」などが生産可能である。また、本プロジェクトで成功した根を伸ばす遺伝子を組み込んだ GMOなどを隔離施設で増殖し、順化させるためにも植物工場は欠かせない。広大なアフリカ大陸の半乾燥地体に展開できる、新たなビジネスモデルが可能となる。

VI(1)(公開)論文発表等

	国内	国際
原著論文 本プロジェクト期間累積件数	1	21

①原著論文(相手側研究チームとの共著論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記)
Tominaga, J., Inafuku, S., Coetzee, T. and Kawamitsu, Y. "Diurnal regulation of photosynthesis in <i>Jatropha curcas</i> under drought during summer in a semi-arid region" (2014) <i>Biomass and Bioenergy</i> 67: 279-287.		国際誌	出版済み	

論文数 1 件
うち国内誌 0 件
うち国際誌 1 件
公開すべきでない論文 件

②原著論文(相手側研究チームとの共著でない論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記)
藪田伸・箱山晋・稲福さゆり・福澤康典・川満芳信 "出葉転換点および幼穂形成始期により分画したイネの成長相における感光性評価". (2015) <i>日作紀</i> . 84(1):64-68.		国内誌	出版済み	
Tominaga, J. and Kawamitsu, Y. "Tracing photosynthetic response curves with internal CO ₂ measured directly". (2015) <i>Environmental Control in Biology</i> 53(1).		国際誌	in press	
Tominaga, J., Yabuta, S., Fukuzawa, Y., Kawasaki, S., Jaiphong, T., Suwa, R. and Kawamitsu, Y. "Effects of vertical gradient of leaf nitrogen content on canopy photosynthesis in tall and dwarf cultivars of sorghum". (2015) <i>Plant Production Science</i> 18(3).		国際誌	in press	
Kawasaki, S., Tominaga, J., Uehara, N., Ueno, M. and Kawamitsu, Y. "Effects of long-term exposure to different O ₂ concentrations on growth and phytochemical content in red leaf lettuce". (2015) <i>Environmental Control in Biology</i> 53(3)		国際誌	in press	
Watanabe, T., Shino, A., Akashi, K. and Kikuchi, J.* "Chemical profiling of <i>Jatropha</i> tissues under different torrefaction conditions: application to biomass waste recovery" <i>PLoS ONE</i> 9, e106893 (2014)	doi:10.1371/journal.pone.0106893	国際誌	出版済み	PLoS ONE誌はNature, Science等では掲載されない多様な分野を扱う一般誌で、オープンアクセスなためアフリカ諸国でも無料ダウンロードして読むことができる。
Komatsu, T., Oishi, R., Shino, A. Akashi, K. and Kikuchi, J.* "Multi-spectroscopic analysis of seed quality and 13C-stable-isotopologue monitoring in initial growth metabolism of <i>Jatropha curcas</i> L. using stable-isotope labeling" <i>Metabolites</i> 4, 1018-1033 (2014).	doi:10.3390/metabo4041018	国際誌	出版済み	

	国内	国際
その他の著作物 本プロジェクト期間累積件数	8	3

③その他の著作物(相手側研究チームとの共著のみ)(総説、書籍など)

著者名,タイトル,掲載誌名,巻数,号数,頁,年	出版物の種類	発 表 日 ・ 出 版 日	特記事項

著作物数 0 件
公開すべきでない著作物 0 件

④その他の著作物(相手側研究チームとの共著でないもの)(総説、書籍など)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	出版物の種類	発 表 日 ・ 出 版 日	特記事項
菊地淳 “分子複雑系” NMR 5, 78-82 (2014).	総説	出版済み	
菊地淳 “NMRにおけるイノベーション” 生物工学会誌 92, 561 (2014).	総説	出版済み	
小松功典、菊地淳 “複雑系高分子群に挑むバイオマスNMRの世界” 細胞工学 33, 843-849 (2014).	総説	出版済み	
Dr. Sayuri Inafuku, Jatropha Cultivation in Botswana	冊子	出版済み	
Akashi, K., Nanasato, Y.: Recent progress in the genetic engineering of biofuel crops. In: Kumar, A., Probst, P., Ogita, S. (eds), Biofuels: Green house gas mitigation and global warming next generation biofuels and role of biotechnology - A Perspective. Springer, in print	総説	in press	

著作物数 5 件
公開すべきでない著作物 0 件

⑤研修コースや開発されたマニュアル等

研修コース概要(コース目的、対象、参加資格等)、研修実施数と修了者数	開発したテキスト・マニュアル類	特記事項
Jatropha Omics course (ヤトロファを実験対象にオミクス解析技法を習得、ヤトロファ研究者対象)、研修実施数1、修了者2	Jatropha Omics Manual	プロテオーム解析およびRNAseq解析

VI(2)(公開)学会発表

	国内	国際
招待講演 本プロジェクト期間累積件数	17	5
口頭発表 本プロジェクト期間累積件数	6	0
ポスター発表 本プロジェクト期間累積件数	8	9

①学会発表(相手側研究チームと連名のもののみ)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国内/ 国際の	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
2014	国内学会	伊達 康博, 渡邊 太二, 小倉 立己, Masego Masukujane, 坂田 研二, Stephen M. Chite, 明石 欣也, 菊地 淳 "ボツワナ共和国のヤトロファ栽培土壌における有機物・無機物・微生物群プロファイリング" 第66回日本生物工学会年次大会、札幌 2014年9月11日			○
			0	0	1件

②学会発表(相手側研究チームと連名でないもの)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国内/ 国際の	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
2014	国内学会	藪田伸・富永淳・稲福さゆり・上野正実・川満芳信"BA (6-Benzylaminopurine) 剤散布がヤトロファの子実収量およびその構成要素へ与える影響" 沖縄農業研究会第53回講演会. 2014年8月1日.			○
2014	国内学会	富永淳・藪田伸・稲福さゆり・河崎俊一郎・上野正実・川満芳信 "ボツワナにおけるヤトロファの光合成特性" 沖縄農業研究会第53回講演会. 2014年8月1日.			○
2014	国内学会	小倉 立己, 伊達康博, 菊地 淳 "動植物の残渣バイオマス入力によるボツワナ土壌のプロファイリング変動" 第66回日本生物工学会年次大会、札幌 2014年9月11日			○
2014	国内学会	明石欣也: バイオ燃料植物ジャトロファの種子における脂質生合成制御. 日本脂質生化学会シンポジウム, 植物脂質研究の新展開, 大阪. 2014.6.6.	○		
2014	国内学会	加藤敦司・梶川昌孝・七里吉彦・辻本壽・横田明穂・明石欣也: 野生種スイカの根において乾燥時に誘導される転写因子CLMYB1の機能解析. 日本植物細胞分子生物学会, 盛岡. 2014.8.21.		○	
2014	国内学会	明石欣也: カラハリ砂漠植物資源とジャトロファ・バイオマス開発. 近畿バイオインダストリー振興会議, バイオマス研究会, 公開セミナー, 大阪. 2014.10.1	○		
2014	国内学会	植田朋樹・七里吉彦、明石欣也: 油糧植物ジャトロファにおける脂質生合成酵素 diacylglycerol acyltransferase の機能解析. 日本生化学会, 京都. 2014.10.18.			○
2014	国内学会	内田美音・Utut Widyastuti・Sony Suharsono・明石欣也: 乾燥ストレス下のジャトロファにおける分子生理応答の解析. 日本生化学会, 京都. 2014.10.18.			○
2014	国内学会	明石欣也: 油糧作物ヤトロファ: 実用化の世界動向. びわ湖環境ビジネスメッセ2014共催セミナー, バイオマスエネルギーとバイオマスリファイナリーの現状とその展開. 滋賀. 2014.10.24.	○		
2014	国内学会	七里良彦・木戸真史・加藤敦司・植田朋樹・辻本壽・明石欣也: 遺伝子導入の最適化と可視化マーカーによるジャトロファ形質転換体の迅速スクリーニング系の確立. 日本植物生理学会, 東京. 2015.3.16.			○
			3	1	6件

VI(3)(特許出願した発明件数のみを公開し、他は非公開)特許出願

①国内出願

	出願番号	出願日	発明の名称	出願人	知的財産権の種類、出願国等	相手国側研究メンバーの共同発明者への参加の有無	その他 (出願取り下げ等についても、こちらに記載して下さい)	関連する論文のDOI	発明者	発明者所属機関	関連する外国出願※
記載例	2012-123456	2012/4/1	○○○○						戦略太郎	○○大学 ◎◎研究科△△専	PCT/JP2012/123456
No.1											
No.2											
No.3											
No.4											
No.5											
No.6											
No.7											
No.8											
No.9											
No.10											

※関連する外国出願があれば、その出願番号を記入ください。

国内特許出願数
公開すべきでない特許出願数

②外国出願

	出願番号	出願日	発明の名称	出願人	知的財産権の種類、出願国等	相手国側研究メンバーの共同発明者への参加の有無	その他 (出願取り下げ等についても、こちらに記載して下さい)	関連する論文のDOI	発明者	発明者所属機関	関連する国内出願※
記載例	PCT/JP2012/123456	2012/9/20	○○○○						戦略太郎	○○大学 ◎◎研究科△△専	特願2010-123456
No.1											
No.2											
No.3											
No.4											
No.5											
No.6											
No.7											
No.8											
No.9											
No.10											

※関連する国内出願があれば、その出願番号を記入ください。

外国特許出願数
公開すべきでない特許出願数

VI(4) (公開)受賞等

①受賞 件

年度	賞の名称	業績名等 (「〇〇の開発」など)	受賞日	受賞者	主催団体	プロジェクトとの関係 (選択)	特記事項

②マスコミ(新聞・TV等)報道(プレス発表をした場合にはその概要もお書き下さい) 件

年度	掲載媒体名	タイトル/見出し等	掲載日	掲載面	プロジェクトとの関係 (選択)	特記事項
2014年度	Sunday Standard	Jatropha Research Project on course despite challenges	41952	18面、 32面	その他	プロジェクト活動紹介

VI(5) (公開) ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等の活動

① ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
		(開催国)	(相手国からの招聘者数)	
2014年12月4日	International Workshop on Sustainable Biomass and Bioenergy Utilization in Tropics	日本	2	

② 合同調整委員会開催記録(開催日、出席者、議題、協議概要等)

年月日	出席者	議題	概要
2014年5月20日	エネルギー局局长、JICA支所長、プロジェクト専門家、UB,DARカウンターパート、JICA南ア事務所員、日本大使館員等	JCC	活動進捗確認、昨年度投入実績確認、問題点等協議、PDM改訂等
2014年9月5日	日ボ合同中間評価調査団員、エネルギー局局长、JICA支所長、プロジェクト専門家、UB,DARカウンターパート、日本大使館員等	JCC(中間評価)	活動進捗確認、中間評価結果発表及び協議、PDM改訂等

研究課題名	ボツワナの乾燥冷害地域におけるヤトロファ・バイオエネルギー生産のシステム開発
研究代表者名 (所属機関)	明石欣也(鳥取大学 准教授)
研究期間	H23採択 H23年6月1日からH29年3月31日まで(5年間)
主要相手国研究機関	資源省(MMEWR)エネルギー局(EAD)、MOA(農務省)農業研究局(DAR)、ボツワナ大学(UB)

JST上位目標

新たに開発されたヤトロファ・バイオマス生産システムが乾燥冷害地を有する他のアジア・アフリカ諸国に展開され、低炭素社会の実現に寄与する

ヤトロファ・バイオマス生産システムがボツワナ国内のヤトロファ栽培へ適用されるとともに栽培地域が拡大される

JSTプロジェクト目標

ヤトロファ・バイオマス生産を最適化する技術プロトコルをボツワナ資源省および農務省に提言し、採用される。

付随的成果

日本政府、社会、産業への貢献	世界の乾燥冷害地において、作物生産を短期間で達成するための、分子ゲノム育種・ICT農法・圃場生物叢制御技術の開発
科学技術の発展	国際シンポジウム 2回。
知財の獲得、国際標準化の推進、生物資源へのアクセス等	ボツワナ・ヤトロファ固有系統の育種利用と、圃場生物叢の統合データベースの構築
世界で活躍できる日本人人材の育成	日本人若手グローバル人材を最低4名派遣し国際研究リーダーを育成、ボツワナ側6人が修士/博士号をUBで取得
技術及び人的ネットワークの構築	南部アフリカにおけるヤトロファ生産国との連携
成果物(提言書、論文、プログラム、マニュアル、データなど)	学術論文10報。

ヤトロファの分子ゲノム育種、ICT農法管理、圃場生物叢制御技術を組み合わせ、遺伝資源・地域環境・生物化学プロファイルを網羅したデータベース構築と、ボツワナ乾燥冷害地域におけるバイオマス生産の最適化及び利用システムの確立

ヤトロファ事業のLCA分析と、社会・経済性およびエネルギー収支の分析

