

令和5年度

鹿児島大学大学院連合農学研究科
先進の研究推進事業報告書

鹿児島大学大学院連合農学研究科

【事業一覧】

1. 加圧 CO₂ 減塩魚醤の品質を決定づける要因の解析

代表者：野間 誠司（佐賀大学）

2. 植物から放出される安息香酸メチルの抵抗性誘導シグナルとしての機能解析

代表者：吉田 理一郎（鹿児島大学）

令和 5 年度連合農学研究科先進的研究推進事業報告書

加圧 CO₂ 減塩魚醤の品質を決定づける要因の解析

研究代表者 佐賀大学
応用生命科学専攻
食品機能科学連合講座
野間誠司

研究の組織と役割分担者

	氏名及び職名	所属大学・専攻	研究の役割分担等
代 表 者	野間誠司・准教授	佐賀大学・応用生命科学	小課題 2、小課題 3 の一部
分 担 者	上野大介・准教授	佐賀大学・生物環境保全科学	小課題 1
	濱中大介・准教授	鹿児島大学・農水圏資源環境科学	小課題 3 の一部

1. 研究の目的と概要

① 研究の目的

我が国の漁獲量がピーク時の約3割にまで落ち込む中、漁獲した魚の約3割は商品価値不足のため、食品利用されことなく廃棄されている。この不条理を解決し、水産資源を保護しつつ、漁業を持続的に発展させるには、廃棄魚に新たな価値を見出す必要がある。一方、魚醤は、醤油よりも多くの遊離アミノ酸を含み、豊かな風味を有する液体調味料である。東南アジアを中心に世界中で製造・消費され、2024年以降も年平均約4%の市場成長が見込まれている。魚醤は、魚介類に大量の塩（製品の塩分：20-25%）を加え、腐敗を防止しつつ室温で長期間放置（発酵）させる単純な操作で作製できる。

研究代表者は、廃棄魚を選別せずに魚醤の原料にできれば、それらを一括して有価物化できるのではないかと考えた。しかし魚醤の高塩分は近年の社会的な減塩志向に反し、またその風味も原材料の魚種にて大きく変化する。したがって、上記着想の実現には、減塩下において原料魚種やその混合比等が大きく変動しても品質や風味が変動しない新たな魚醤製造技術が必須となる。

研究代表者はこれまで「CO₂の溶解に伴って同時に生じる酸性化、嫌気化、カチオンの捕捉、微小空間の疎水化等を食品加工に活用できないか」と考えて研究を展開してきた。その一環として、本作用を魚醤の調製に応用し、4種類の魚とその混合物をそれぞれ原料として加圧CO₂下で魚醤を作製した。その結果、減塩（NaCl 10%）下でも腐敗は生じず、興味深いことに、原料にかかわらず共通して出汁様のかおりが増加し、旨味・旨味コクが増加した（*Food Bioproc. Technol.* (2023, 16, 434-446)）。魚醤においては、魚醤中の揮発性成分が、味には難揮発性成分が寄与すると考えられる。また、これらは混在する細菌の発酵産物によって生成するとされている。

そこで本研究では、「未利用魚から加圧CO₂・減塩下で品質安定性の高い減塩魚醤を作製する技術」の確立を目指し、加圧CO₂・減塩下で生じる風味の向上と類似化の原因物質探索、それを生じる細菌の特定を最終目標とする菌叢解析手法の基礎検討を行った。

② 研究の概要

本研究ではまず、出汁様のおい向上をもたらす揮発性成分を探索する。そのために、ガスクロマトグラフィー（GC）-質量分析（MS）やGC-においかぎ（O）により、揮発性成分のメタボロミクスや揮発性成分のおいの特徴付けを行う。また、旨味コクの増

加を生じる物質を探索するべく、orbitrap MS を用いて難揮発性成分のメタボロミクスを行う。さらに、次世代シーケンサを用いた 16S rRNA アンプリコン解析を用いて加圧 CO₂ 減塩魚醬中の生残細菌叢を調べる手法の基礎検討を行う。

2. 研究の成果（研究の役割分担者ごとに記載）

まず、佐賀市内の鮮魚店にて未利用および利用頻度が低い魚（クチゾコ、エツ、コチ、セトウシノシタ）を入手した。これらの等重量混合物（mixture No. 1, M1）、クチゾコの割合が多い混合物（mixture No. 2, M2）、エツの割合が多い混合物（mixture No. 3, M3）を調製し、それぞれについて加圧 CO₂ 下（5 MPa, NaCl 終濃度 10%）、大気圧下（0.1 MPa, NaCl 終濃度 20%）にて 30°C で 2 ヶ月間インキュベートすることで魚醬を作製した。作製した魚醬の一部は直ちに下記検討③に使用し、残りは小分けして -80°C で保存し、①、②の分析時に必要量を解凍した。

① 出汁様のおい向上の要因解析（分担者 上野大介）

揮発性成分の分析に先立ち、官能検査により加圧 CO₂ 魚醬と大気圧魚醬のおいの特徴を評価した。その結果、原料が同じ（M1-M3）であるにもかかわらず加圧 CO₂ 魚醬と大気圧魚醬のおいの印象は明確に異なり、加圧 CO₂ 魚醬 3 種類は「出汁、醤油、塩味、お茶」様のおいを呈し、その印象のばらつきも小さかった。一方で、大気圧魚醬 3 種類は「スルメ」様のおいを呈していると評価されたが、印象のばらつきは加圧 CO₂ 魚醬よりも大きかった。また、加圧 CO₂ 魚醬の方が快いにおいであり、においの強度は大気圧魚醬で強いことが分かった。

GC-MS によるノンターゲット分析を行い、得られた揮発成分の種類とピーク面積を主成分分析した。その結果、加圧 CO₂ 魚醬 3 種類と大気圧魚醬 3 種類でグループ化が可能であり（第一主成分 60.7%、第二主成分 14.6%）、加圧 CO₂ 魚醬では 3 種類の均一性がより高いことが判明した。GC-O により揮発性成分のおいを分析した結果、加圧 CO₂ 魚醬では、「出汁様」、大気圧魚醬では「糞便様、土壌様」のおいを呈する揮発性成分が検出された。また、加圧 CO₂ 魚醬の出汁様のおい向上は、複数の化合物の単純な混合によって生じている可能性が示された。

② 旨味コクの増加を生じる原因の特定（代表者 野間誠司）

加圧 CO₂ 魚醬、大気圧下魚醬を味覚センサー（Intelligent Technology）で分析した結果、3 種類の加圧 CO₂ 魚醬で共通して旨味コクの増加が認められた。遊離アミノ酸組成と含量を調べた結果、グルタミン酸等のうま味を呈するアミノ酸は加圧 CO₂ 魚醬 3 種類で共通して増加するわけではなかった。加圧 CO₂ 魚醬に特徴的な成分を探索するべく、逆相クロマトグラフィーにて、魚醬中の UV 吸収物質の分離を行った。しかし、分離できたピークについては加圧 CO₂ 魚醬と大気圧魚醬の間に明確な違いは認められなかった。また、親水性物質が多く含まれることが分かった。

そこで、佐賀県工業技術センター食品コスメ部の協力の下、HILIC カラムまたは ODS カラムを用いた orbitrap LC-MS を用いて、魚醬の不揮発性成分のメタボローム解析を行った。その結果、いずれの魚醬、カラムにおいても 5 万種類を超える成分が検出された。これらを主成分分析した結果、加圧 CO₂ 魚醬と大気圧魚醬を明確にグループ分けすること

はできなかつた。そこで、M1-3 から作製した加圧 CO₂ 魚醬と大気圧魚醬の成分量を比較した結果、HILIC カラムを使用した場合は、633 物質が加圧 CO₂ 魚醬で 10 倍以上に増加しており、645 種類で 10 分の 1 以下に低下していた。ODS カラムを使用した場合は 10 倍以上の増加が 361 物質、10 分の 1 以下への低下が 863 種類で認められた。現在、各種多変量解析を用いて、加圧 CO₂ 魚醬でうま味コクを特徴づける成分の絞り込みに取り組んでいる。

③ 細菌叢解析の基礎検討（代表者 野間誠司、分担者 濱中大介）

近年、魚醬の細菌叢解析と代謝物解析を行い、両者を紐づける、すなわち、魚醬の風味を決定づける代謝物とそれを生成する細菌を決定する研究が精力的に行われている。しかしその論拠となる 16S rRNA アンプリコン解析による細菌叢解析では「死細胞の存在」および「生細胞の絶対数」が全く考慮されていない。加圧 CO₂ 処理は殺菌・静菌作用を有しているため、加圧 CO₂ 魚醬には細菌の死細胞が含まれていると推察される。そこで本研究では、死細胞ならびに細胞数を考慮した 16S rRNA アンプリコン法による細菌叢解析を行うための基礎検討を行った。

作製直後の加圧 CO₂ および大気圧魚醬に菌数定量用の内標準として *Escherichia coli* を一定量添加後、PMAxx (Biotium) を添加して DNA を抽出した。これらを試料として 16S rRNA アンプリコン解析による細菌叢解析を依頼分析により行った。

その結果、定量化までは至らなかったものの、加圧 CO₂ 魚醬中の生残細菌数は大気圧魚醬と比較して顕著に少ないことが分かった。また、PMAxx の添加により解析結果としての細菌叢が変化した。さらに、細菌叢の多様性は大気圧魚醬よりも加圧 CO₂ 魚醬の方が大きいこと、細菌叢の類似度は pCO₂ 魚醬よりも大気圧魚醬で高いことが分かった。これらの結果から、加圧 CO₂ 魚醬 3 種類には、多様な細菌が少数で存在しており、細菌叢の共通性も乏しいことが判明した。したがって、加圧 CO₂ 魚醬で共通する風味の形成に対する細菌の寄与の有無、寄与している場合はその機構を慎重に見極める必要があると考えられた。

④ 学会、論文等への成果発表（投稿中を含む）

なし

3. 研究の総括と今後の課題・展望（代表者）

・研究の総括

研究代表者はこれまでに、CO₂ 加圧溶解下で魚醬の作製を試みた結果、50%の減塩に成功し、さらに原料魚に依らず、風味が類似化（出汁様のおい、うま味・コクの向上）することを見出した。本研究では、この風味類似化現象を解明するべく、まず、加圧 CO₂ 魚醬の揮発性成分を官能検査と GC-MS および GC-O により分析した。その結果、加圧 CO₂ 魚醬の出汁様のおい向上は、複数の化合物の単純な混合によって生じている可能性を示す結果を得た。次に、orbitrap LC-MS により、難揮発性物質のノンターゲット分析を行った結果、5 万種類を超える化合物が検出され、そのうち、加圧 CO₂ 魚醬で大気圧魚醬の 10 倍以上に増加、1/10 以下に減少した化合物がそれぞれ数百種類存在することが判明した。今後、これらの中からうま味コクに寄与する成分を絞り込む必要がある。最後に、加圧 CO₂ 魚醬中の細菌叢解析を行うための基礎検討を行った。その結果、生残細菌数の定量化に至らなかったものの、得られた結果から加圧 CO₂ 魚醬の細菌叢は、多様で少数であり、共通性に乏しいこ

とが分かった。

・次年度に向けての課題・計画・展望等

本研究では、2 か月間で調製した加圧 CO₂ 魚醤について解析を行い、その風味を特徴づける成分の特定に近づくとともに、今後の解析に必要な手法に見通しをつけることができた。今後、それぞれの手法を確立した上で、加圧 CO₂ 魚醤の生成過程における風味や細菌叢の変化を計時的に追跡する必要がある。

・科研費等の競争的外部資金への応募計画

上記の課題を中心とし、本研究で使用した研究計画や研究体制を含めて立案した申請研究が、科学研究費補助金（基盤研究 B）に採択された（2024-2026 年度）。このプロジェクトには本研究の共同研究者であり、鹿児島連大の構成員である上野大介准教授に分担者として参画いただくことになっている。この紙面を借りて心より感謝申し上げます。

支援金の執行内訳

（単位：円）

費 目	金額（税込）	内訳（品名，旅行先等）
物 品 費	2,683,200 円	HPLC 整備費、サンプル濃縮装置、DNA 抽出試薬、CO ₂ ガス、溶離液等
人件費・謝金	0 円	
旅 費	0 円	
そ の 他	316,800 円	次世代シーケンサ（NGS）受託解析
合 計 金 額	3,000,000 円	

資料等

なし

令和5年度連合農学研究科先進的研究推進事業報告書

植物から放出される安息香酸メチルの抵抗性誘導シグナルとしての
機能解析

研究代表者 鹿児島大学
応用生命科学専攻
吉田理一郎

研究の組織と役割分担者

	氏名及び職名	所属大学・専攻	研究の役割分担等
代表者	吉田理一郎・准教授	鹿児島大学・応用 生命科学	研究の統括
分担者	清水圭一・准教授	鹿児島大学・応用 生命科学	形質転換植物の作出
	岡本繁久・准教授	鹿児島大学・応用 生命科学	耐病性の評価 二次代謝産物の同定
協力者			

1. 研究の目的と概要

① 研究の目的

本研究事業は、揮発性天然有機化合物である安息香酸メチル (Methyl Benzoate : MB) のプラントアクティベーターとしての機能を分子レベルで明らかにすることを目的とする。MB は、ペチュニア等の花から放出される代表的な香気成分であるが、非常に強い殺虫活性を有することが報告されている (Feng and Zhang, Sci Rep., 2017)。研究代表者らは、トマトの葉からも MB が放出されること、そして、バジルと混植することによりその放出量が顕著に促進されることを見出した。また、MB が化学シグナルとしてトマトやシロイヌナズナの病害抵抗性遺伝子の発現を促進する作用についても確認してきた。

本研究グループでは、1) バジルとの混植が、トマトの MB 放出量を促進するメカニズム、2) 菌根菌の感染がトマトの MB 放出に与える影響、3) MB が植物の病害抵抗性に与える効果、4) MB を介した病害抵抗性誘導のシグナル伝達機構、を明らかにすることを具体的な目的とした。

② 研究の概要

植物は多様な「香り (揮発性物質)」を放出するが、これまでに研究代表者らは、傷害を受けたトマト葉から放出される揮発性物質のプロファイルが昼夜で大きく異なることを見出してきた。本研究ではその中でも夜間に多量に放出され、除虫菊に含まれるピレスロイドの5~20倍の強力な殺虫効果を有する安息香酸メチル (Methyl Benzoate : MB) に注目する。MB は幾つかの重要な農業害虫に効果が認められているが、ヒトや天敵昆虫等には無害であることから、安心・安全なバイオ農薬として注目されている (Feng and Zhang, Sci Rep., 2017)。しかしながら、この MB が植物体に与える生理・生化学的な影響は明らかにされておらず、今後、MB を農薬として利用する上で大きな課題である。

これまでに研究代表者らは、バジルとの混植がトマトからの MB 放出量を顕著に高めること、そして、極低濃度の MB の暴露が植物体における病害抵抗性遺伝子 *PRI* の発現を強力に誘導することを明らかにしてきた。本研究グループでは、強力な殺虫効果と共に、植物体に病害抵抗性シグナルを誘導する MB の化学シグナルとしての作用機構および科学的根拠を分子レベルで明らかにすることを目的とし、将来的に低環境付加農薬としての実用化を目指す。

2. 研究の成果

① バジル以外のハーブがトマトの MB 放出に与える影響 (担当: 吉田)

これまでにバジルとの混植がトマトの MB 放出を顕著に高めることを明らかにしてきたが、バジル以外のハーブとの混植効果についても検討を行った。バジルの他に、ペパーミント、タイム、ロマンカモミールとトマトとの混植を行い、夜間にトマトの葉から放出される MB を、ヘッドスペース SPME (solid-phase microextraction) を用いたガスクロマトグラフ質量分析計 (GCMS) 解析により調査した。その結果、何れのハーブにおいても MB 放出量の促進が確認され、その効果はバジルとの混植よりも高い傾向にあった (図 1)。

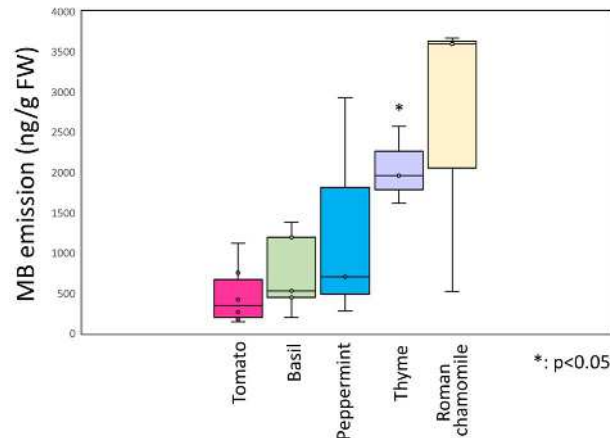


図 1 ハーブとの混植はトマトからの MB の放出を促進する

② 菌根菌の接種がトマトの MB 放出に与える影響 (担当: 吉田)

研究代表者らは、バジルとの混植がトマト根への菌根菌の感染を飛躍的に高める効果を確認している。そこで、菌根菌の感染がトマトからの MB 放出量に与える影響について調査した。市販の菌根菌製剤であるマイコジェル (ハイポネクス社) およびバラップマーク (ワケンビーテック社) を施用してトマト植物体を生育させた。なお、本実験では、3 種のバジル (スイートバジル、タイバジル、レモンバジル) とトマトを混植させた。その結果、菌根菌の施用における MB の放出はトマト単独では効果が低かったものの、バジルとの混植により促進される傾向が確認された。また、供試した 3 つのバジルの中で、レモンバジルによる効果が最も大きかった。これらの結果は、バジルとの混植による MB 放出量の促進に菌根菌の感染が関与する可能性を示唆している。

③ MB による病害抵抗性遺伝子発現のシグナル伝達 (担当: 吉田)

研究代表者らは、トマトおよびシロイヌナズナに MB を暴露させると病害抵抗性遺伝子である *PR1* の発現が強く誘導される結果を確認してきた (図 2)。*PR1* の発現は植物ホルモンであるサリチル酸 (SA) が関与することから、MB のシグナル伝達経路に SA が関与するかを確認する必要がある。そこで、シロイヌナズナの SA 非感受性を示す *npr1-1* 変異体および SA 合成能を欠損した *sid2-2* 変異体が MB による *PR1* の発現に与える影響を調査した。その結果、*npr1-1* 変異体では MB による *PR1* の発現が強く抑制されることが明らかとされた (図 3)。一方、*sid2-2* 変異体では、正常に MB による *PR1* の発現が確認された。これらの結果より、MB による *PR1* の発現誘導に関わるシグナル伝達経路に SA が関与することが強く示唆された。

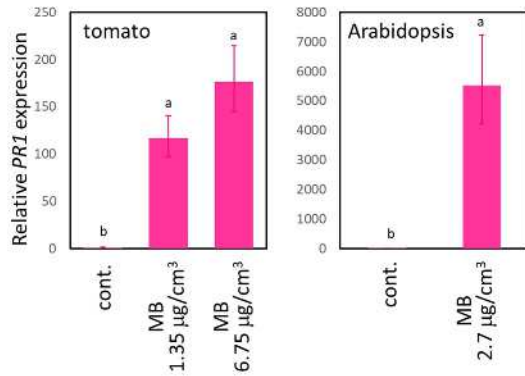


図2 MB はサリチル酸応答性遺伝子 *PRI* の発現を誘導する

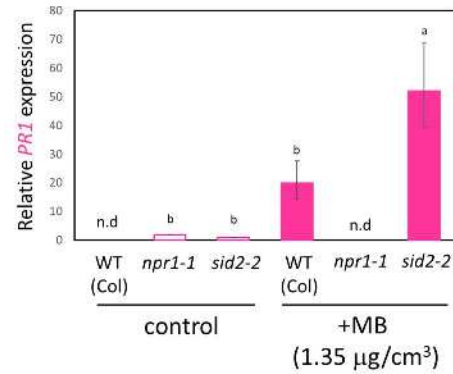


図3 MB による *PRI* の発現誘導には SA が関与する。

④ MB 合成酵素およびサリチル酸メチルエステラーゼ遺伝子の発現解析 (担当: 吉田)

ペチュニアの花を用いた解析から、MB の合成には *BAMT* (benzoic acid carboxyl methyltransferase) が関与することが報告されている (Kolossova et al., Plant Cell, 2001)。ペチュニアで過去にクローニングされた *BAMT* 遺伝子の塩基配列をベースとしてトマトホモログ遺伝子を探索した結果、3 つの候補遺伝子 (*SIBAMT1*, *SIBAMT2*, *SIBAMT3*) が検索された。これらの遺伝子のトマトの葉での発現を RT-PCR により調査した結果、*SIBAMT1* と *SIBAMT3* の発現が確認されたが、*SIBAMT2* の発現は確認できなかった (図4)。更に MB がこれら3 つの遺伝子の発現に与える影響を qPCR 法により調査した結果、*SIBAMT1* と *SIBAMT2* は検出ができなかった。*SIBAMT3* に関しては、MB 処理による有意な発現低下が認められた (図5)。



図4 RT-PCR によるトマトの葉における *SIBAMT* および *SISABP2* の発現確認

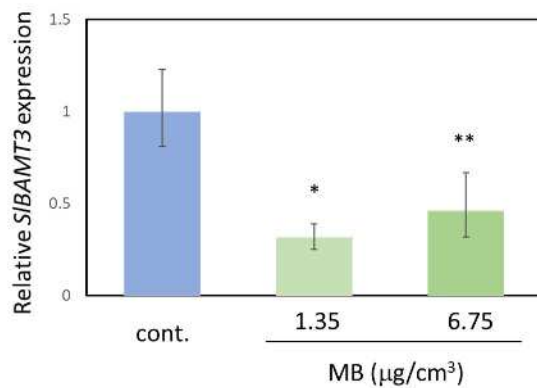


図5 MB はトマト *SIBAMT3* の発現を抑制する

MB は細胞内で安息香酸に加水分解され、それが SA に変換される可能性が推測される。タバコで同定された *SABP2* (Salicylic acid-binding protein 2) は、細胞内でサリチル酸メチル (MeSA) を SA に加水分解する酵素であるが、シロイヌナズナゲノムには 20 個の *SABP2* ホモログ遺伝子 (*AtMES*) が確認されている (Yang et al. Plant Physiol., 2008)。そこで、これら 20 遺伝子の T-DNA 挿入遺伝子破壊システムを入手した。これらの遺伝子破壊システムの中で MB による *PRI* の発現誘導が抑制されるシステムをスクリーニング中であり、MB を

安息香酸に加水分解する候補遺伝子の特定を図る。

トマトにおいても2つの *SABP2* ホロモグ遺伝子 (*SISABP2Ba*, *SISABP2b*) が検索され、これらの MB による発現変動を qPCR 法により調査した。その結果、*SISABP2a* は MB により発現が促進されることが確認された (図5)。

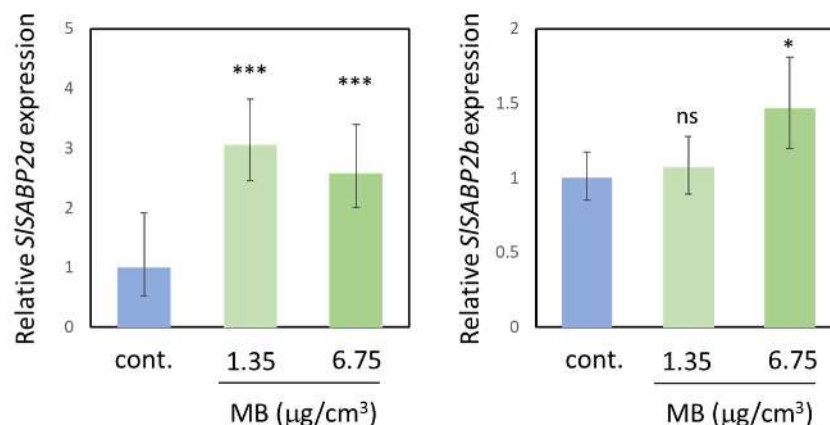


図5 MB はトマト *SABP2* 遺伝子の発現を促進する

⑤ MB は SA シグナルを誘導する (担当: 岡本)

植物ホルモンは、植物の発生・成長のみならず生体防御を制御する信号物質である。岡本らの研究グループは、長年、植物ホルモンの一つブラシノステロイドのシグナル伝達系で働く BES1/BZR1 転写因子群(6種)の研究を行ってきた。そして、その一つ *BEH2* の過剰発現が SA 及び全身獲得抵抗性 (SAR) 関連遺伝子群の発現抑制を導くことを発見した(Otani et al., 2022)。このことは、*BEH2* 転写因子がストレス応答型植物ホルモン SA のシグナル伝達の”ブレーキ”として機能することを示唆する。また、上記とは逆に SA が生理学的濃度において *BEH2::GUS* 融合遺伝子の発現を抑制することも明らかになった (図6A)。これらの結果から、SA は *BEH2* というブレーキを解除することで SA シグナルを開始する、或いは同ブレーキを解除し続けることでシグナルを維持している (正のフィードバック機構) と考えられた。

本事業では、*BEH2* を SA シグナルのマーカー遺伝子と見立て、SA 類似物質4種【揮発性化合物2種; MeSA と MB、不揮発性化合物2種; 安息香酸(BA)とアセチルサリチル酸(ASA)] が *BEH2::GUS* 融合遺伝子の発現に与える影響を調査した。その結果、ASA を除く類似物質3種が SA と同様に融合遺伝子由来の GUS 活性を抑制することが明らかとなった。図7に示すように BA はサリチル酸合成経路の一つ PAL 経路の中間産物であることから、外生 BA が SA に変換された結果、*BEH2* 発現が抑制されたと考えられた。また、シロイヌナズナにはメチルエステラーゼ(MESs)が存在することから、外生の MeSA が SA に変換されて *BEH2* 発現が抑制されたと考えられた。一方、MB を BA に変換する酵素の存在は報告されていない。しかし、外生 MB が *BEH2* 発現を抑制したこと (図6B) から、MeBA からメチル基を除去する酵素 (反応系) が存在し、外生 MB が BA に変換されて、さらに PAL 経路を通じて SA が作られたものと想像された。以上を纏めると、上記3種の外生 SA 類似物質は最終的に SA に収斂し、その結果、SA シグナルが発動したと考えられた。このことから、植物揮発性物質 MB が生体防御に働く機構の一つは SA シグナルの活性化にあると推察された。

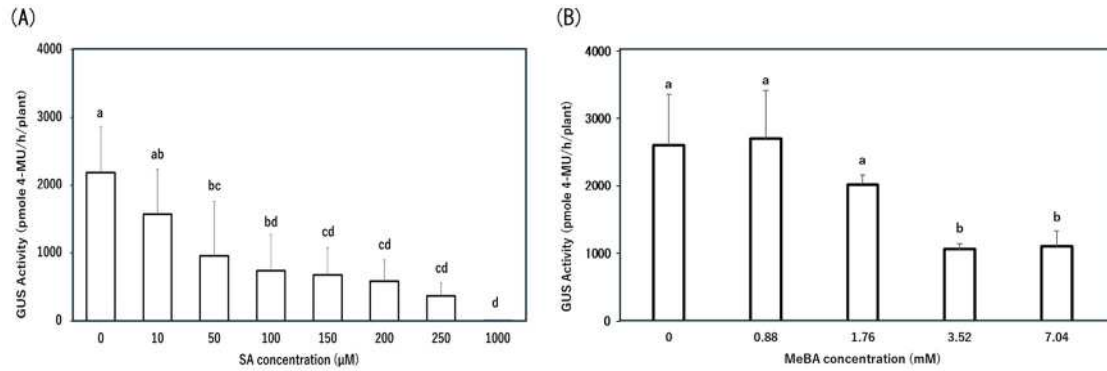


図6 *BEH2::GUS* 融合遺伝子の発現に対する SA 及び MB の影響

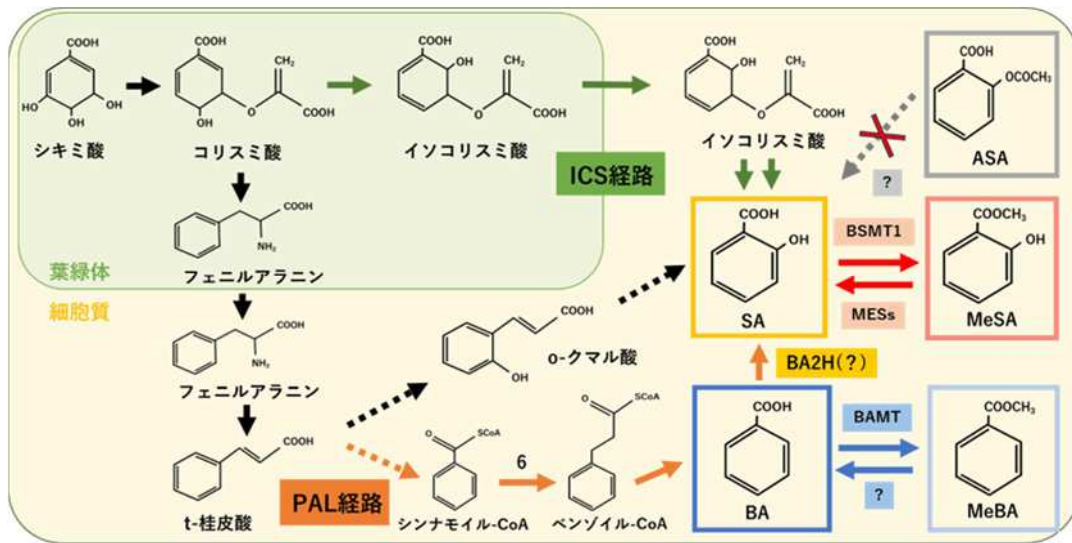


図7 SA 合成経路と SA 類似物質の関係性

⑥ ゲノム編集によるトマト *BAMT* および *SABP2* 遺伝子機能欠損系統の作出 (担当: 清水)

トマトにおいて MeSA を SA に修飾する *SABP2* 遺伝子のホモログ (*SISABP2a*, *SISABP2b*) を、ゲノム編集により機能を欠損させ、当該遺伝子の機能解析を行うことを試みた。既存のゲノム編集用バイナリーベクターを使用し、トマトのモデル品種 ‘Micro-Tom’ にアグロバクテリウム法で形質転換を行い、30 個体以上の独立した形質転換シュートが再生した。そのうち、解析可能な程度にシュートが生育した 10 個体で PCR 法によるジェノタイプングを行った。その結果、*SISABP2a* では、遺伝子型がヘテロ変異型のバンドパターンを示したものが 5 個体得られた (図 8 Lane1, 2, 4, 6, 9)。*SISABP2b* に関しては 2 個体がヘテロ変異型のバンドパターンを示した (図 8 Lane1, 9)。そのうちの 1 個体では、両遺伝子が変異型になっており (図 8 Lane1)、この個体の後代ではこの 2 つの遺伝子が変異型ホモとなった個体を得ることが期待できる。これまでに解析した形質転換当代では、変異型ホモの個体は得られていないが、今後は、解析可能な程度に成長した個体が増えてくると考えられ、それらの個体の解析を順次行っていくことで、変異型ホモの個体を得られる可能性がある。また、MB の生合成に関与する *BAMT* 遺伝子に関しても、同様な手法でゲノム編集が進行中である。

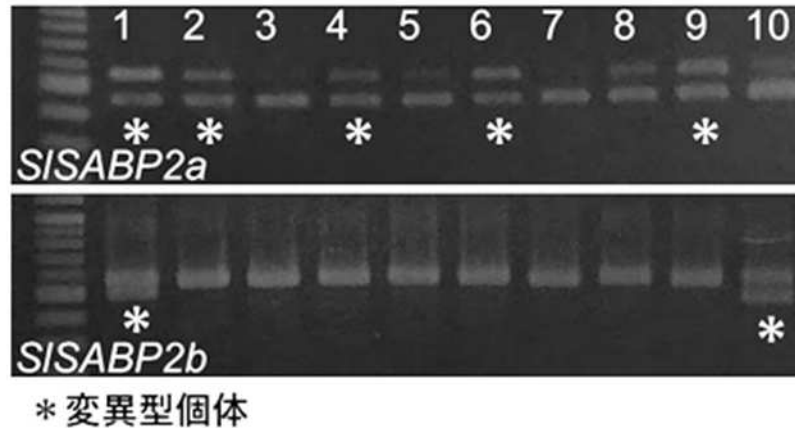


図8 *SISABP2* 遺伝子をゲノム編集した個体の PCR 解析

⑦ RNA-seq を用いた網羅的な遺伝子発現解析 (担当: 吉田)

MB の化学シグナルとしての詳細を明らかにするために、シロイヌナズナを用いた RNA-seq 解析を行った。特に、MB と構造が類似した MeSA を介したシグナリングとの比較を行うため、解析に用いた RNA は、無処理区、MB 処理区、MeSA 区とした。現在、外部業者に解析を依頼している。

3. 研究の総括と今後の課題・展望

・研究の総括

本研究事業により、MB シグナリングに SA が関与することが、遺伝学および逆遺伝学的な手法により明らかとされた。また、バジル以外のハーブとの混植においても MB 放出量の促進が確認された。MB による実際の病害抵抗性付与については残念ながら調査することができなかったが、MB が耐病性獲得に働く SA のシグナル経路を活性化することは、実際の病原菌抵抗性に対してもプラスに作用する可能性が大いに期待される。MB 合成に寄与する *BAMT* および MB の脱メチル化に寄与する *SABP2* の発現解析においては MB による発現変動が認められたが、今後、より慎重な検討が必要と思われる。準備的ではあるが、トマト植物体からの MB 放出は生育ステージによる制御を受ける可能性を得ている。特に、トマトの開花後に多量に放出される可能性があり、生育ステージにおける詳細な放出量の測定と共に、候補となる *BAMT* 遺伝子の発現変動についても検討の余地がある。

・次年度に向けての課題・計画・展望等

次年度は、前年度に実施できなかった MB による病害抵抗性について検討する。また、トマト *BAMT* および *SABP2* ホモログ遺伝子の機能欠損系統を作出し、MB 放出量および病害抵抗性遺伝子発現への影響を調査したい。特に、MB 放出量が低下した系統が、「立ち聞き効果」として周囲の植物の病害抵抗性に与える影響を明らかにできればと考えている。また、菌根菌の感染と MB 放出量との関係についてはデータの取得が不十分であったため、再度検討を図る。最終的には、実際に圃場レベルおよび施設栽培レベルでの病虫害抵抗性効果について MB の有効性を明らかにしたい。また、類似した構造を持つ MeSA に MB と同様な病害虫に対する殺虫・忌避効果があるかは明らかにされていない。この点に関しては、鹿児島大学農学部の坂巻祥孝教授にご教授いただき共同研究について打診を諮りたい。

MBは揮発性化合物であることから、農業資材として利用するためには、施用後、長期間にわたり効果を持続させる必要がある。そこで、MBを「香りのマイクロカプセル」化することを検討している。鹿児島大学工学部の吉田昌弘教授はそれに特化した研究を専門とされており、是非とも、共同での研究開発を実現化したい。そのためにも、MBの化学シグナルとしての、そして、病害虫抵抗性の資材としての有効性を証明したい。

・ 科研費等の競争的外部資金への応募計画

本研究成果に基づき民間の助成金を申請し、採択された。また、本研究成果を発展させる上で科研費等の競争的外部資金に応募する予定である。

4. 支援金の執行内訳

費 目	金額 (税込)	内訳 (品名, 旅行先等)
物 品 費	2,527,820	試薬、消耗品
人件費・謝金	0	
旅 費	87,180	学会参加費 (北海道大学、札幌市)
そ の 他	385,000	RNA-seq 依頼解析費用
合 計 金 額	3,000,000	