

二国間交流事業 共同研究報告書

令和4年4月12日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[代表者所属機関・部局]

山形大学 ・ 農学部

[職・氏名]

教授 ・ 塩野 義人

[課題番号]

JPJSBP1 20199915

1. 事業名 相手国: カメルーン (振興会対応機関: OP) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) エンドファイトを利用したカメルーンにおけるバナナ病原菌の防除を目指した共同研究

(英文) Collaborative research aimed at controlling banana pathogens in Cameroon using endophyte

3. 共同研究全実施期間 令和元年4月1日 ~ 令和4年3月31日 (3 年 0 ヶ月)

4. 相手国代表者(所属機関・職・氏名【全て英文】)

Faculty of Science, University of Yaounde 1 ・ Professor ・ Bonaventure Tchaleu Ngadjui

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		3,770,000 円
内訳	1年度目執行経費	1,870,000 円
	2年度目執行経費	1,900,000 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究全実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	8 名
相手国側参加者等	7 名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	3	-	-()
2年度目	-	-	1(0)
3年度目	-	-	-()
4年度目	-	-	-()

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣: 本委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入: 相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は本委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流実績の概要・成果等

(1)研究交流実績概要(全期間を通じた研究交流の目的・研究交流計画の実施状況等)

カメルーンにおいて、バナナは重要な作物の一つであり、近年、輸出用のバナナの付加価値の向上や安全性の高い有機栽培方法が注目されている。そこで、ヤウンデ第一大学の Bonaventure Tchaleu Ngadjui 教授らのグループとともにエンドファイトを利用した減農薬栽培や有機栽培方法の共同研究を計画した。共同研究に先立ち、ヤウンデ第一大学周辺のバナナ農園に行き（三人が相手国への訪問）、農園での有機農法の説明を受け、また、現状を把握し、種々意見交換を行った。次に、その周辺においてバナナの木やその他の植物を採取した。

それらの採取植物を乾燥させたのち、実験室で、植物の表面をエタノールや滅菌水、次亜塩素酸ナトリウムで、殺菌後、寒天プレート状に静置した植物片の内部より現れる糸状菌を植物内生菌（エンドファイト）として、分離した。続いて、それらの菌類を数種類の培養培地で培養後、それぞれの培養物をメタノール抽出した抽出物について、TLC や HPLC により分析し、物質の生産性を調べた。その結果、33 の植物片より分離したエンドファイトのうち、11 種のエンドファイトにおいて、顕著な生理活性を示すものが見つかった。また、その中には、グラム陰性とグラム陽性菌に対して、弱い生育阻害を示す菌株があり、真菌類に対して、生育阻害を示す菌株もあった。次に、それらの培養抽出物を用いて、さらに物質生産の再現が良いエンドファイトに絞り、再度培養実験を行った。その結果、ペニシリウム属に属する糸状菌を選抜し、その培養物より、シリカゲルや ODS カラムクロマトグラフィー、HPLC による単離精製作業を行い、最終的に、10 種類の化合物を単離することができた。続いて、得られた化合物については、NMR データ解析を中心とした化学構造解析を行ったところ、ほとんどの化合物が、メロテルペノイドに分類される糸状菌の代謝産物として知られるオースチン類であった。しかし、そのうちの一つは、オースチンの新しい類縁物質であることが判明した。この物質については、カビやバクテリアに対して、抗菌活性を示さなかった（100 microg/mL）。今回、物質を分離したペニシリウム属の菌類は、一般的に、土壌をはじめとして、多くの場所より、分離されるため、今回の分離源として用いたバナナとの宿主特異的な関連性は考えられない。

今回単離された化合物群は、メルテルペノイドに分類され、一般的に、メロテルペノイドとは部分テルペノイドを所有し、生合成経路において、主にイソプレノイドとフェノール類がカップリングして生じる一群の化合物であり、その構造多様性と特徴的な生理活性から高い注目を集めている。バナナのエンドファイトから植物病原菌などに対する生育阻害活性を有する生理活性物質を利用するなど、農薬の使用量を低減や生物農薬への応用を視野に入れると、今回単離された物質については、さらに、種々の生理活性試験を調べる必要がある。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

本研究は、植物内生菌であるエンドファイトを利用することで、使用する農薬の量を低減させ、結果的に、残留農薬の低下、病原耐性菌が発生しにくいなど、化学農薬使用時に比較し、環境負荷が少ないというメリットを生かした有機農法の基盤研究を目指したものである。すなわち、本研究で得られる成果は、自然界の微生物でなおかつ植物と共生関係にある微生物を用いることから、環境負荷をより少なくすることが特徴であり、将来的な安定的な微生物農薬の開発に結びつくと考えられる。結果としては、

実用化までには、至っていないが、ある植物内生菌類が多く、生理活性物質を生産していることがわかり、それらの化学構造や生理活性物質を明らかにした。植物を微生物の分離源としたこのような手法により、有用な植物内生菌類をスクリーニング可能であり、有用物質の生産性から、今後、微生物農薬としての可能性が大いに期待できる。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

本研究における相手側のグループの一員である Dr. Turibio Kuiate Tabopda 氏が、JSPS の外国人招へい研究者の制度により、来日し、共同研究することができた。本プロジェクトと同じ時期に来日し、共同研究を実施できたことは、コロナ感染症対策で、国際交流が制限されていたことから、Dr. Turibio Kuiate Tabopda 氏の来日は、大いに交流を活発化させた。さらに、この研究を通じて、初年度にヤウンデ第一大学で行ったセミナーを通じた人物交流により、若手研究者との交流をすることができ、今後の共同研究を始めるきっかけになり、今後も共同研究の実施や他の JSPS 国際交流事業に応募することにつながっている。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

カメルーン国内でのエンドファイトに着目した研究例も少ない。本研究を通じて、微生物を取り扱う作業を共に実施したことから、相手側国で、今後、エンドファイトを生理活性物質の探索源としたアカデミックな研究が増加すると考えられる。また、今後も、共同研究を通じて、お互いに発展できる機会も増加すると予測できる。さらに、本申請は従来のように単なる微生物を無作為に探索するのではなく、植物に内生するエンドファイトにより、病原菌抑制作用菌類を探索するところにある。すなわち、バナナに寄生するエンドファイトを利用することにより、農薬の使用量や残留農薬を低下させ、病原耐性菌が発生しにくいなど、環境負荷が少ない栽培方法の開発に着手されることが今後期待される。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取り組み、成果)

研究組織の若手研究者の吉田潤氏や修士課程の学生、博士課程の大学院生(岩手大学大学院連合農学研究科)などが、この研究に参加された。相手側国からは、コロナ感染症の影響で、予定が変更され、来日者は、Dr. Turibio Kuiate Tabopda 氏の一名であったが、このプロジェクトを通じて、対面作業以外にも、メール等の意見交換を通じて、自分自身の研究分野外の研究者や研究以外の職種の人と交流する機会が増えた。また、このように多様な人々と交流することにより、異なる考え方の存在や新しい研究に対するヒントなど得ることができた。また、前述の様に、当初予定の交流計画が変更されたことから、最終的な直接の交流は、相手側の研究者 Dr. Turibio Kuiate Tabopda 氏が来日した時の交流であった。Dr. Turibio Kuiate Tabopda 氏においては、令和3年5月にセミナーと研究紹介を行っていたが、専門分野のみならず、相手側国の文化や歴史も含めて、交流し、学ぶきっかけになった。

(6)将来発展可能性(本研究交流事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

今回の研究では、実用化まで、開発には至っていないが、今後、微生物農薬や農薬の新しい候補になりそうなくつかの物質を明らかにした。この方法を応用することで、相手側の研究者が、この手法を

応用することができるきっかけとなった。これまで、エンドファイトを用いた微生物農薬やその代謝産物が、病原菌に対して効力を示すことが知られているが、相手側においては、実験設備不足やエンドファイトに関する取り扱いの知識の不足により、実行できずにいた。この状況と我々が行ってきたエンドファイトからの生理活性物質の探索手法とを組み合わせることにより、バナナ栽培へのエンドファイトの利用研究が実施できる可能性が生まれた。また、バナナのエンドファイトから植物病原菌に対する生育阻害活性を有する菌類や生理活性物質を利用することで、農薬の使用量を低減できる可能性を考えると大いに期待できる。また、化学肥料・農薬の低減は、地球温暖化防止や生物多様性保全にも有効な手段である。一方、世界に目を向けると、バナナは 120 ヶ国で生産されており、約 1000 万ヘクタールの面積にも及び、今後も、病原菌から守り、バナナを安心安全に供給していく上での基盤研究となり、本共同研究を通じて、共同研究を実施し、ある程度の成果が得られたことは、今後もこの分野での発展に期待できる。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記述してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞、産業財産権の出願・取得など
ありません。