

戦略的創造研究推進事業 ACCEL

研究開発課題

「共生ネットワークの分子基盤とその応用展開」

研究開発終了報告書

研究代表者 氏名 川口 正代司

プログラムマネージャー 氏名 齋藤 雅典

1. 研究開発成果

1-1. 実施概要

世界的な食料増産の必要からリン肥料の需要が増加している。しかし、リン資源は有限であり、リン肥料の効率的な利用が求められている。アーバスキュラー菌根菌（以下、菌根菌）は植物の根に共生し、作物のリン吸収を促進する機能を有し、リン肥料の効率的利用を可能とする。しかし、絶対共生菌であるために、菌根菌の培養には植物への共生が必要であり、時間と労力がかかり高コストである。さらに、どのような栽培条件で菌根菌の効果が発現するのか十分に明かになっていない。

そこで、本課題では、最先端のゲノム研究とフィールド研究を融合し、菌根菌の新たな培養技術を開発し、フィールド試験に基づき、リン肥料節減のために最適な菌根菌利活用診断システムの開発を行った。

菌根菌 *Rhizophagus irregularis* および国内で分離した *Rhizophagus clarus* のゲノムを世界最高水準の高精度で解読した。これにより、脂肪酸合成酵素が2種に共通して欠損していること等、絶対共生性の分子的基盤を明かにした。さらに、脂肪酸パルミトレイン酸が *R. irregularis* の非共生の単独培養における孢子形成を顕著に促進することを見出し、非共生状態の純粋培養の初めての成功例として認められ *Nature Microbiology* 誌に掲載された（図）。さらに、培地組成・培養方法に改良を加え、培養効率を大幅に高めることに成功した。

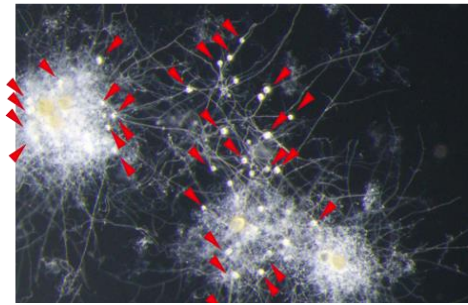


図. パルミトレイン酸を含む培地を用いた AM 菌の純粋培養。赤矢印が次世代孢子。

菌根菌の効果が発現する条件を明らかにするために、国内各地のフィールドにおいて菌根菌接種試験を実施した。接種した菌根菌を追跡するためには、大規模シーケンス技術により菌根菌等の土壤微生物の種構成を自動的に同定する解析システムを構築した。3年間にわたって全国各地で実施したネギに対する菌根菌資材のフィールド接種試験に基づき、ネ

ギへの接種効果を予測する診断モデルのプロトタイプを構築した。ダイズ、トウモロコシについて、接種効果は判然としなかったが、主な原因は土着菌根菌との競合による接種菌の定着不良と推定された。そこで、土着菌根菌の活性を簡易に評価する方法を開発した。また、ダイズについては菌根菌に対する応答性に品種間差異があり、それがダイズの生育特性と関連していることを明らかにした。

植物は、リンを根（直接経路）および菌根（菌根経路）を通じて吸収するが、これまでそれらの量的評価は困難であった。植物の菌根経路の働きを網羅的遺伝子発現解析によって評価する方法を開発した。すなわち、モデル植物を用いて手法を構築し、ネギのフィールドでの菌根菌接種試験について、菌根経路のリン吸収速度を、少数の遺伝子（分子マーカー）の発現量によって推定することができた。この技術は、接種効果予測診断モデルの精度向上に資するものである。

2. 社会実装／実用化に向けた取組

2-1. 実施概要

アーバスキュラー菌根菌（以下、菌根菌）は植物の根に共生し、植物のリン吸収を助けて植物の生育を促進する機能があるために、菌根菌の農業利用のための技術開発が進められ、国内外の数多くの事業者が農業用微生物資材としての製造をしてきた。しかしながら、菌根菌は絶対共生のため、菌の増殖のためには宿主である植物を栽培する必要があるため、菌根菌資材の製造にはコストがかかり、このことが普及の障害となっている。

国内外の菌根菌資材メーカーから情報を収集したところ、多くの事業者は温室等の植物栽培施設で資材を製造していたが、一部の事業者は毛状根を用いた *in vitro* 系での資材製造を行っていた。製造コストの詳細については不明であるが、本課題で開発した非共生状態培養技術は、慣行の培養法に比して、コスト的に遜色ない段階に達しており、実用化に向けて民間事業者との共同研究を開始する。

菌根菌の農業利用を進めていく上で、どのような栽培条件で菌根菌の効果が発現するのか十分に明らかになっていないことが、大きな障害になっている。そこで、効果の発現する条件をフィールド試験で明らかにするために、全国各地から、多様な土壌・気象条件の試験地を選定し、フィールド試験を実施するために、フィールド試験に熟練した関連研究者を組織した。供試する菌根菌資材は、国内メーカーが慣行法で製造している資材を選定し、資材中の菌根菌のフィールドでの追跡のために、本課題で開発した土壌微生物叢解析システムを活用した。

フィールド試験の結果、今回の試験条件では、ネギで接種効果が認められ、菌根菌接種効果予測診断システム（プロトタイプ）を開発することができた。しかし、他の作物での効果は限定的であった。ネギは国内では産出額3位の指定野菜であり、リン施肥量の多い作物であることから、菌根菌接種によるリン肥料節減と生育促進の経済的効果は大きく、菌根菌接種効果予測診断システムの有効性は高いと期待される。しかし、実用化のためにはさらに現地フィールドにおいてシステムの有効性の検証を積み重ねる必要がある。

そこで、農水省の産学官連携協議会に、関連する技術者・研究者で組織するプラットフォームを登録し、ネギ生産法人、培土メーカーと連携して、実用化に向けた研究の展開を進めている。

本課題で開発した土壌微生物叢解析システムは、菌根菌のみならず多様な土壌微生物を解析できる汎用性のあるシステムであり、かずさDNA研究所のサーバーに構築し、一般に公開している。本課題終了後も、引き続き公開する予定である。国内外の学会等で本システムの有用性を広報し、利用者拡大を進めている。