

## 講演 2 : 奈良先端科学技術大学院大学

バイオサイエンス領域 助教・博士[農学] 晝間 敬 氏  
「植物根圏微生物群を活用した植物生長促進技術の開発に向けて」



みなさんこんにちは。奈良先端大学の晝間です。

先ほど東樹先生が根圏、もしくは土壌中には様々な菌糸のネットワークが張り巡らされていて、それを現在の技術を使えば可視化ができるということを中心にお話しいただいたと思います。

私は、特に植物の成長を促す有益な微生物と植物が、具体的にどのような仕組みを介して相互作用をしているのか、また、その相互作用が双方にどのようなメリットをもたらすのか、さらには、宿主植物は共生菌をどのように制御しているのか、といった点について今日ご紹介したいと思います。また、そうしたメカニズムを実験室環境下で理解していくわけですが、実際の外の野外環境に、どうやって適用できるのか、といった試みについても少しお話をしていきたいと考えています。早速ですが、この写真は、菌糸の存在と植物の根を可視化したものです。ご覧のとおり、根の周りには菌糸構造が張り巡らされていることが分かります。

ここで、簡単に研究の背景についてご紹介いたします。

東樹先生のお話しにもあったように、近年、主に DNA バーコーディング、次世代シーケンサーの技術を活用した研究から分かってきたこととしましては、それぞれの好みの植物種において、どういった微生物、主にこれは細菌や糸状菌と言ったものが中心になるのですが、どういったものがどの割合で存在するのか、言い換えると、調査された植物の微生物カタログ情報に関しては、その集積がかなり進んでいます。

これは腸内細菌の研究と同様に、そうした情報は世界中でかなり蓄積している段階になっています。

これは、いくつかの先行研究の論文例を紹介したものです。主に欧米のグループによって、根圏に存在するバクテリア集団の研究が、実験室環境下で行われております。その結果、アブラナ科植物のモデル植物になるのですが、シロイナズナの根圏の細菌叢の構成についての詳細が、2012年に報告されています。また、これまで土壌微生物のほとんどが培養できないと言われていたのですが、実は根圏の周りに存在する細菌の場合は、その約半数が培養可能であるといったことが報告されています。更には植物の抵抗性、防御応答にも関係する植物ホルモンが、根圏の細菌叢を制御しているという事や、リン欠乏に対する植物の適応応答が、実はそうした細菌叢を制御していることなどが分かってきました。

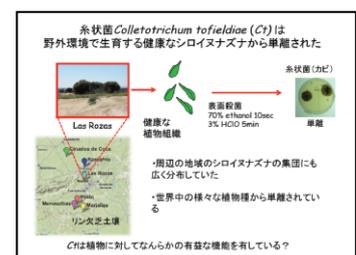
また2018年になると、根圏細菌叢が、根圏に存在する病原主菌を抑制する機能を持っていることも報告されています。細菌は、単細胞生物ということもあり、扱いやすいことから、精力的に世界中で研究が行われています。一方で、先ほどご覧いただいたような菌糸を伸ばすような根圏の糸状菌の研究に関しては、まだまだ不明な点が多いというのが現状です。こうした研究を見てみると、健康な植物から検出された菌は、植物に有益な作用を及ぼす潜在的な機能があると考えられます。しかし、いわゆる内生菌と言われているようなものの中には、これまでに精力的に研究がされてきて、さまざまな植物種に病害を引き起こすような病原菌と認識されているような菌と近縁なものが、ゴロゴロいます。こういった病原菌と近縁な内生菌が、植物の成長や生存にどのような効果を発揮しているのかについては全く不明であったため、興味を抱いたのが始まりです。

この図は、どうやって有益な効果を発揮するような微生物を単離するのかの方法論を、簡潔に示しています。まず、野外から健康な植物を採ってきて、その健康な植物の組織片に対してエタノールや次亜塩素酸などの、いわゆる殺菌作業を行い、表層に単に付着した菌を洗い流します。その後、その組織片を、栄養培地に置くと、数日してくと、このように組織片から、糸状菌、カビがでてきます。

現在も網羅的に様々な植物種から、同様の手法を用いて微生物を単離しています。ただ、その一方で、こうしたものはかなり大量に採れてくるので、大量の微生物の中からどの微生物が特に植物にとって重要なのかを推測しないといけません。そこで私たちは、単に一植物体から、偶然取れてきた糸状菌に着目するのではなく、異なる地域に生息する同じ植物種からも、頻りに検出または単離される糸状菌が、植物との相互作用をするうえで、重要な役割を担っているのではないかと考えました。

私たちは、糸状菌として「コレトリカム トフィルディーエ」、以下は簡略化して「Ct」と呼ばせていただきますが、「Ct」という菌を同定しました。この菌は日本産ではなく、スペイン産で、スペインの首都マドリッド中心部に生息するモデル植物シロイナズナから単離してきました。

特徴としましては、この特定の場所だけではなく、他の地域、標高の違いや、距離が300kmほど離れているような地域において存在するようなシロイナズナからも、この菌は単離されてきたことから、少なくともこの周辺においては、集団においてこの菌は広く分布していることがわかりました。また、後ほどご紹介しますが、この菌はスペインの環境だけではなく、日本の様々な植物から単離されてきており、かなり幅広い植物種と相互作用をすることができる菌として考えられました。また、ポイントとしましては、この地域と言うのは、他のヨーロッパの地域とか、もちろん日本と比べても、いわゆる植物が利用可能な栄養素であるリンがかなり欠乏した環境下で、植物の成長は、



かなり弱々しいような環境下です。一方で、シロイナズナが元気で育っているようなところから採られた菌なので、ひょっとすると、こうしたリン欠乏土壤に適応するような効果を、この「C t」というのは、植物に対して発揮しているのではないかと考えられました。

こうした様々な地域での地道なサンプリング実験などを介して、この菌がかなり広く植物と相互作用をする重要な菌であるのではないかと考えられました。そのため、まず始めに、本菌がどのように植物に感染するのかといったことについて、調査することにしました。

まず説明しなければならないこととして、根を何も染色せずに菌糸を染めると、菌糸と根っこは同じように見えてしまい、区別することが困難でした。このため、この菌に形質転換という遺伝子組換え技術を適用することによって、菌糸が常に GFP という蛍光タンパク質で緑色に光るようにしました。さらに、根っこ側も可視化するために細胞膜が紫色の蛍光タンパク質で光るようにした形質転換植物にこの菌を接種させた後に、その感染行動を観察しました。これは、摂取してから大体8日後の結果をこの写真は示しています。

最初にご説明したとおり、8日経つと根っこの周りには菌糸のネットワークというものが幅広く広がっていることがわかります。このことから、根っこの周りに複雑な菌糸ネットワークが形成されていることがわかります。一方、単に根っこの周りに、このように菌糸を伸ばしているだけではなく、例えばこの白い四角で示したような領域を拡大してみたのが、この写真です。

見て分かることとしては、矢印で示した点において、外の菌糸からその細胞の中に、菌糸が入っているのがわかります。このことから、単にまとわりつくだけではなく、菌糸は細胞の中に菌糸を形成するという事がわかりました。分かりづらい場合は、別のアングルで、断面図で撮影したのが下の写真になります。植物の根っこは、外側から表皮、皮層、内皮、中心柱という階層的な構造をとります。菌糸は、皮層細胞に菌糸を形成することが、断面図を用いることによって、少しは明確になると思います。さらに拡大したものがこれになります。ポイントとしては、単に細胞の中に入っているだけではありません。植物の細胞膜をラベル化したものですが、細胞膜が菌糸を取り巻くように細胞内菌糸は形成されることがわかります。このことから、中に入っているのですが、細胞自体は死んではおらず、その植物は、生きたままの状態を維持しており、このインターフェイスは、普通の細胞膜ではなく、様々な膜成分がここに集まってくるのですが、こうしたインターフェイスを介して植物は栄養を受け取ったり、逆に菌糸に栄養を与えたり、様々な活動が、この場を通じて行われていると考えられています。

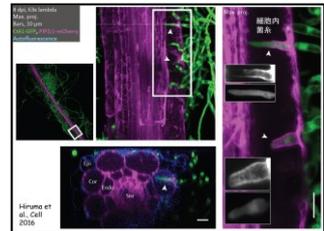
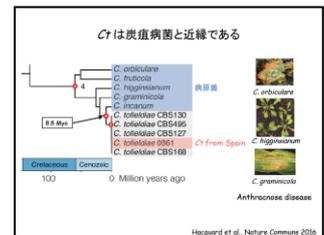
このように菌は、単にまとわりつくだけではなく、効率よく植物の中に入り、こうした植物との共生関係を樹立する能力というのがあるというのがわかりました。

別の実験で単純に菌糸を染色したうえで、根の断面図を見たものです。青く染まっているのが菌糸で、表層付近には、何かメラニン化したような構造体を作り、細胞の間もしくは細胞内部に、このように菌糸が効率よく伸長していることが、この断面図から分かると思います。

このように菌はアブラナ科のモデル植物であるシロイナズナの根に、効率よく感染し、共生関係を樹立することが考えられました。顕微鏡観察を繰り返すと、どのように菌が感染するのかが分かってくるのですが、感染するとして、どういった有益な効果を、この菌が植物に提供しているのかを次に明らかにしていく必要があります。

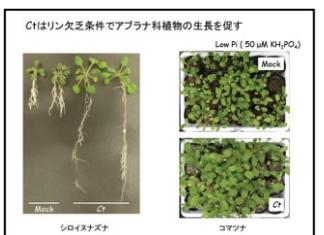
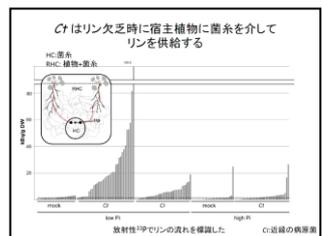
先ほども東樹先生のご説明にもありましたが、世界中の多くの土地で、植物が直接的に活用できるリンというのは、かなり不足しています。実際は、微生物によって不溶性のリンが分解されて、植物が使いやすいようなリンが出来たりして、それを植物が活用しているのが自然環境なのです。しかし農業現場においては、そのリン不足を補うために、大量の人工肥料が添加されています。もちろん人工肥料は、優れた効果を発揮して、作物の生産をかなり拡大してきたわけですが、同時に、こうした人工肥料のソースとなる鉱石が、世界の中で特定の場所でしか採れないということと、また、諸説ありますが、今後高品質のリンをつくることのできる鉱石が枯渇するという考え方もあります。そのため、こういった人工肥料だけに頼る方法では、将来的に問題が生じるので、こうした微生物を活用することによって、上手く植物の成長を促していく必要があると考えています。

そこで、リン欠乏になるとこのように植物は根っこが短くなり、代わりに横方向に根っこが伸びます。これは、恐らく地上付近の落ち葉などが分解されたことによるリンなどのソースがあるので、そうしたリンを取りやすいように、根っこの改変が起こり、更に地上部は、より紫色になる、これはアントシアニンが溜まったものなのですが、こうした症状を示します。こうしたことで、植物のバイオマスが低下するわけですが、この「C t」が分離されたスペインの地域においても、真っ赤な表示になっていることから、植物が、直接利用可能なリンがかなり不足している地域です。ひょっとするとこの菌が、アブラナ科植物にリンを供給することによって、その成長を促しているのではないかと考えました。実際にリンを運ぶかどうか検証することにしました。



Ctが分離された4地域の土壤は栄養が枯渇している

POPULATION	ALTITUDE (m)	HABITAT
Ciruelos de Coca	789 m	Open sites and edges of a pine forest
Rascafria	1280 m	Transition from deciduous meso oak to pine forest
Las Rozas	724 m	Mediterranean xeric grassland
Polán	513 m	Mediterranean evergreen Quercus scrubland
Menasalbas	735 m	Wooded (Quercus) Mediterranean xeric grassland
Marjaliza	983 m	Mediterranean evergreen Quercus forest



この図はリン輸送の有無を示す実験系を示しています。まず手に乗るくらいの正方形プレートに、リン欠乏の培地を使い、植物を2つここに置き、更には中に小さなシャーレを入れます。このシャーレが物理障壁になっていて、ここの中に菌糸を置いて、菌糸はシャーレを、こちらからこちらへ渡っていき、植物の方へ伸びていき感染することができます。一方で、根っこの場合はこの障壁をクリアできないので、この領域の中には根っこは侵入できません。ここにラベル化した放射性元素でラベル化することは、実験室の環境下では行おうのですが、ラベル化したリンを菌糸のところに加えて、その後1週間後くらいに、かなり離れた地上部で、このP33放射性物質が検出されるのかどうかを測定したのが、このグラフとなります。

Mock処理区から見ると、地上部でP33が検出されていないことから、物理的な拡散は起こらないことがわかります。一方、この「Ct」をかけた場合は、ご覧の通りMockと比べて、有意に地上部に、このP33の活性が認められています。このことから、この「Ct」は、この菌糸を介して根に感染してリンを運ぶことができるという事が分かりました。

一方で、近接種の、簡略化して申し訳ありませんが、「Ci」は、実は病原菌です。同じような植物に感染させると病害を根っこに起こすのですが、この病原菌を接種した場合は「Ct」と比べると、リンの輸送が起こらないことがわかります。しかしMockと比べると、若干リンの蓄積が認められることから、いわゆる病原菌と言われている菌の中でも、こういったリンを一定量運ぶことができるような微生物が存在することが考えられます。

要するに、病原菌と共生菌は、かなり違う存在にも見えるのですが、本質的に何が違うのかは、今後理解していく必要があると考えています。これがリン欠乏条件下の結果ですが、逆にリンを人為的に十分与えた場合の実験区を同様に作って調査しました。

驚くべきことに、リンが十分にある場合においても、菌糸自体は植物に感染しますので、当然一定量リンを運んでいると思ったのですが、ご覧のとおり、リンが十分に培地に存在する場合においては、この菌が感染しているにも関わらず、ほとんどリンを運ばないことが分かりました。つまり、この菌は菌糸を介して連結地においては、リンを植物に供給できるということ、一方で、この供給能力はかなり周辺のリン環境、恐らく植物が自分で入手できるリンの量によって依存しており、リンが十分にある場合には、何らかの仕組みによって、リン輸送は阻害されることが分かってきました。

もう少しメカニズムについてご説明すると、リン欠乏において、植物自身で根っこの周りからリンを供給するために、細胞膜局在型のリン酸トランスポーターが活躍しています。

このグラフは、少し細かいですが、シロイナズナのゲノム上に存在するリン酸トランスポーターを縦に示していて、その発現量を色あいで示しています。青ほど暗くて、赤ほど発現量が多いことを示しています。リン十分とリン欠乏、菌ありと菌なし、菌接種後6日目、10日目、16日目、24日目で発現量を調査しました。

見てもらうと分かりますように、細胞膜に局在するPHT1タイプのリン酸トランスポーターは9つ存在しますが、これらの多くはリン欠乏で誘導されていることが分かります。

リン欠乏においては、植物は、こうしたリン酸トランスポーターの活性を高めることによってリンを土壌中から獲得していると考えられています。ここで注目すべきこととしては、このリン欠乏時に、菌感染によって特定のタイプのリン酸トランスポーターの発現がさらに上昇することが分かりました。

このことから、このリン酸トランスポーターが、菌糸からのリンの受け取りに重要ではないかと考えられました。

そこで、次に、そのリン酸トランスポーターに、GFPを融合させたタンパクを発現する形質転換植物に、この菌を接種して、GFPの局在を顕微鏡下で観察しました。

上が光学顕微鏡画像で、侵入菌糸を形成しております。一方で同じ図のGFPの蛍光画像が下に示されています。見て分かるように、菌糸の周りをうまい具合に、リン酸トランスポーターの蛍光が取り囲んでいるのが分かります。マンガにすると、菌糸が中であって、その周りをこのリン酸トランスポーターが取り囲むように存在していることが分かります。このようなことから、このリン酸トランスポーターが、菌糸から植物へのリンを受け渡しに関与しているようなものであることが考えられました。

そこで実際に、リン酸トランスポーターが存在する野生型の植物と、リン酸トランスポーターを破壊した植物変異体を同時に調査しました。植物の地上部のリン濃度を測定した結果、野生型においては、「Ct」が根に感染すると、大体2倍程度にリン濃度が地上部で上昇します。一方、この変異体では、ご覧の通り、そうした上昇というのが認められなくなったことから、やはりこのリン酸トランスポーターが、菌糸からリンを受け取るのに重要であることが考えられました。

ただ一方で、菌が存在しない場合には、むしろこのリン酸トランスポーターがない植物変異体の方がリンの濃度が高いです。実は、リン酸トランスポーターには、大きく分けて2つあって、1つは植物が自分でとるようなリン酸トランスポーターと、もう1つに、菌特異的なものがあって、両者は拮抗的な役割があることが見えてきました。

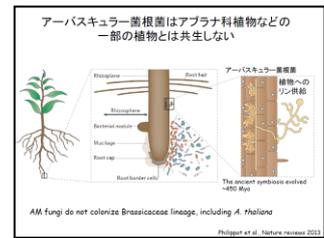
ここがややこしいところで、菌のリン酸トランスポーターを破壊すると、菌が存在しないときは、リン酸獲得能を高められることが見えてきました。このパラドックスをどのようにして解消していくのか、こうした菌を将来的に応用していくために重要ではないかと考えています。

こうしたリンの受け渡しの能力に呼応して、この菌を接種すると、リン欠乏の環境下において、ご覧のとおり、Mockと比べて根っこが伸びて、更には地上部が有意に上昇することがわかります。

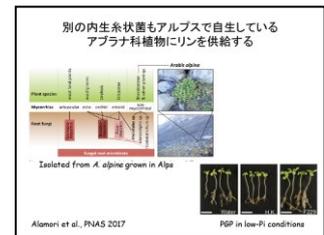
これが、シロイナズナというモデル植物の例です。それ以外にも、アブラナ科植物には様々な野菜が存在します。例えば、これは小松菜の例ですが、ご覧の通りMockと比べると、この菌をかけると、小松菜においても成長が著しく促されることが分かります。

このことから、この菌は、リン欠乏条件下で、複数種類のアブラナ科植物の成長を有意に増加させており、そのメカニズムというのは、菌糸を介してリンを運ぶことにあるとわかってきました。

ここまでのまとめです。マンガで恐縮ですが、この菌は、アブラナ科植物にリンを供給して成長を促します。菌が根の中に入り込み、このように細胞膜に囲まれた菌糸を形成し、恐らくここからリン酸トランスポーターを活用してリンを受け取っていると考えられます。ここでお示したリンを運ぶという能力は、アーバスキュラー菌根菌という菌が似たような効果を発揮することが報告されており、精力的に研究されています。アーバスキュラー菌根菌は、根っこ内部に樹状の密度の高いような菌糸をつくり、そこから植物にリンを供給して、代わりに植物は炭素をあげるという共生関係が成り立っているわけです。更に共生関係は、地上植物が現れた2億年前から、始まっていると考えられていますが、アブラナ科植物とか、ソバとか、一部の植物種に関しては、こういった菌根菌が共生しなくなったということが明らかになっています。



一方で、アブラナ科植物は、様々な地域、リン供給の地域に適応していったわけで、これまでアブラナ科植物が菌根菌との共生を失ったにも関わらず、どうやって適応してきたかということが謎だったわけです。



我々の研究によって、この「Ct」という内生糸状菌が、菌根菌と類似の機能をかわり提供していることを報告しました。これも先ほど東樹先生からご紹介がありましたが、別の内生糸状菌、リン欠乏の土地に適応したアブラナ科植物で、アルプスの標高の高い地域で頑張っている植物種から単離されたヘロテアエスと呼ばれる菌が、同じように、この植物のリン欠乏での植物成長を促します。この事からも、こういった激烈な環境下に適応する植物は、仮に菌根菌との共生を失っても、こういった内生糸状菌、これまで機能がほとんどわかっていなかったような、良くわからない得体のしれない菌と共生することによって、こういった同様のサービスを受けられることが分かってきました。

内生糸状菌のメリットは色々と考えられます。菌根菌は、基本的に絶対共生菌なので、培養は困難です。一方で、私たちの菌は、人工培養が容易であって形質転換もできます。また、資材準備のコストも抑えられることが期待されます。こういった菌を活用して植物の成長を促すというのは有益な方向性であると考えています。



ここまで第1部なのですが、実際、先ほど「Ct」はスペインからオリジナルが来たとして申し上げましたが、実をいうと、この「Ct」という菌を一つ取って見ても、これまでに様々な地域、欧州や日本においても様々な地域、様々な植物からも、この「Ct」は単離されています。

スペインと日本の環境を比べると、ほとんどの地域においては環境、気温帯が異なります。こういった有益な菌を活用していくためには、できれば活用する地域から採れた菌を活用するほうが、将来的に環境に合わないといった問題を回避できるのではないかと考えました

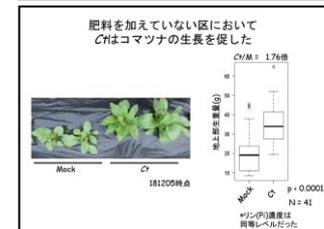


そこで、こういった菌がそもそも、アブラナ科植物に対する共生能を持っているかどうかについて調査しました。日本から単離してきた、山口県で採取した植物から単離した「Ct」株は、シロイナズナの成長も同様に促しますし、ご覧のとおり、これは幼植物段階ですが、小松菜の成長についても、リン欠乏下で大きく促すことが分かりました。

実際には、実験室の研究だけでは本当にそういった菌が有益なのかどうかかわからないので、私たちは自分たちの大学にある、この写真で示した野外実験圃場で成長実験を行うことにしました。野外実験圃場と言うとすごく立派なものをイメージされるかも知れませんが、家庭菜園の場の端にあって、その1区画に僕らのような一部の研究者が活用する圃場、実験スペースがあります。そこにアブラナ科植物とこの「Ct」を接種させた植物を培養して成長促進効果が、気候変動が起こる様な野外環境下においても認められるのか、という実験も行いました。



区としては、人工肥料、これはN、P、Kの肥料を単純に与えたものと、少なくとも僕たちが実験を開始した5年間に関しては人工肥料を一切与えていない区、2つを用意して、そこに小松菜を、Mockと「Ct」を接種した株をそれぞれ混在させて、大体10月に植えて、12月に回収するというスパンで実験を行いました。



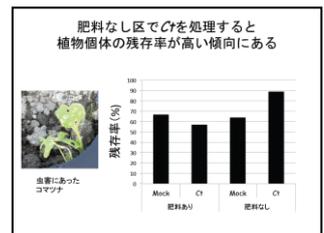
結論から言うと、意外に野外環境でも、少なくとも秋期間に関しては成長を促すという事が分かりました。ご覧の通り菌がない場合と比べて、横の菌が存在する環境下においては、小松菜の成長が大きくなっていることが写真でわかります。もう少し精密に、地上部の正重量を測ったところ、ご覧の通りMock区と比べて「Ct」区、少なくともこの区においては、大体1.76倍に増加することが分かりました。

また同時にリンの濃度もこの植物に対して測って比較したところ、リン濃度が同等レベルであったことから、つまりは地上部生重量が大きくなった分、この「C t」をかけた区では、実際にリンを蓄積していることが分かりました。このように肥料を加えていない区においては、この「C t」は、小松菜の成長を促すことはできることが見えてきました。

一方、植物の味がどうなるのかが気になっています。こうした菌をかけた結果、不味くなってしまふのであれば、使えないと思うのですが、少なくとも食べてみたところでは、少し濃い目の味がしたくらいで、少なくとも私の味覚においては一般的なスーパーで買えるものと、この小松菜の味の差は分かりませんでした。将来的にこうした菌と一緒に育てたような植物も、実際に売っていけるのではないかと、きっかけとなる様な実験を行いました。

また、これも少し面白いと思ひ、これは野外で実験したからこそ見えてきたことなのです。それは、先ほどは、リンが少ない時に成長を促すお話しをしていたのですが、それは予想通りでした。実験室でさんざん実験を行って、そうした結果を見ていたので、わかったのです。一方で、この菌をかけると、いわゆる野外に存在する雑多な「虫」に対する抵抗性を獲得するのではないかと、そうしたことを示唆するデータも得ています。

ご覧の通り、特に小松菜を植え替えた直後は、特に農薬も一切効いていませぬので、かなり虫害を受けて、結構な割合で植物が枯死します。農薬散布などの対策はしていませんので、枯死してしまうのです。しかし、ご覧の通り菌を感染させると、他の区と比べると、その葉植物で虫によって食われて、枯死するような割合が減って、残存率という、蒔いた数分の生き残った数で表すと、有意に他の区と比べて高まります。このことから、この菌をかけておくと、「肥料投入はなし」という条件ではあるのですが、植物個体の残存率が高まるという副次的なメリットも存在することがわかりました。

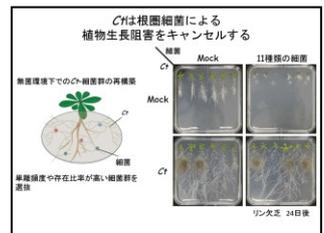


よくよく見てみると、これは実験室の条件下なのですが、たまたま私たちの実験室の中にコバエが沢山存在していて、残念ながら、結構アブラナ科の植物がコバエに食べられる状況になっていました。しかし、コバエはMock処理区の植物を結構食べるのですが、「C t」をかけた小松菜は、意外にコバエに食べられていないことがわかりました。やはり菌に感染すると、小松菜の虫による障害から植物を守る効果もあるのではないかと考えており、この形質はかなり有益と考えています。メカニズムは、まだわからないのですが、例えば植物ホルモンのエチレンの前駆体である物質が、そのいわゆるカビが存在する場合の葉っぱで高蓄積していることから、防御応答関連の物質が蓄積することによって、虫が、少なくともコバエが、この小松菜を嫌って、こうやって植物が元気に育っているのではないかと考えられました。

更に、この菌は虫に対する抵抗性もあるのではないかとこの事でしたが、最近、上手く根圏細菌群をコーディネートする効果があることを示唆する結果も得ています。

これまでに根圏に存在する細菌というのを網羅的に単離して、例えば単純に単離頻度や、そのシーケンス結果から存在比率が高い細菌群、この場合は11種類を選んで、無菌環境下で「C t」と細菌の11種類を混ぜて、それが植物にどういった影響を与えるのかという実験を行いました。

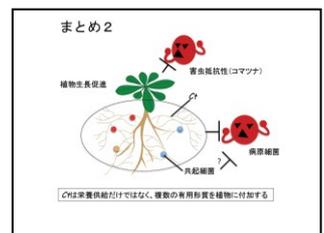
よく根の周りに存在する細菌11種類を、単に混ぜて植物に与えるだけだと、細菌だけの場合は、ご覧のとおりMock区と比べると、成長阻害がかなり起きます。一方、この菌を付加しておくと、そうした細菌群の効果が認められずに、少なくとも同等レベルまで、植物成長が促されます。このことから、少なくともこの菌と言うのは、こうした成長阻害するような細菌の構造を、何らかの形で制御して、全体的に平和な環境を作り出すということもある、ということが示唆されました。



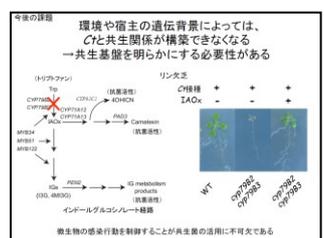
ということでまとめますと、今回、最初はリン欠乏に適応した植物から、微生物を単離してきて、その中から植物にとって有益な機能を持つ微生物を絞り込み、その感染様式や成長促進の背景に、あるメカニズムの一部をご紹介いたしました。そして、フィールド環境下においても同様の効果を発揮できるということが見えてきました。

更に、フィールド環境下の実験によって、この菌は単にリン欠乏下で植物成長を促すだけではなく、メカニズムはまだわからないにしても、害虫に対する抵抗性や、もしかすると根圏に存在するような成長を阻害するような病原細菌も、抑えるような仕組み、つまり「C t」は、そうした根圏の微生物叢を制御して、その結果植物の成長を最適化するような効果を持っているのではないかとこのことが見えてきました。

つまり、少なくとも1種類の菌を活用することにより、複数の有用物質を植物に付加できるということが見えてきました。



では、今後の課題として、これから考えていることについて、ご紹介していきたいと考えています。良い菌というのは、常に良いのかというと、そうではありません。例えば、これは極端な例かもしれませんが、植物は多様な二次代謝物を作っていて、それらは、様々な抗菌活性を示すものや、時には植物の独特の臭いの原因になったりします。植物のトリプトファンからできる二次代謝物が様々あり、一部は抗菌活性を示すことが実際報告されています。例えば、CYP79B2 CYP79B3という酵素がありますが、この二重変異体に、この「C t」をかけるとどうなるかという、実は枯死します。



少なくとも「C t」以外の微生物が存在しない無菌環境下では。

菌単独で植物に感染させると、本来は成長を促す良い菌だと、さんざん言ってきたこの菌が、植物を枯死させます。

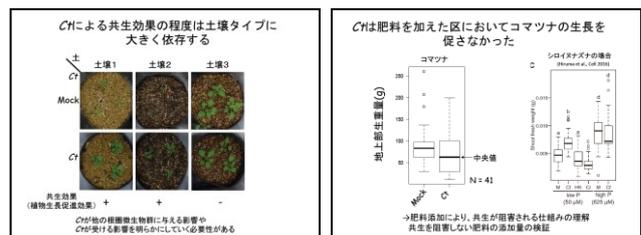
ということからも、少なくとも、トリプトファン由来の二次代謝物がない場合においては、この菌は植物との共生関係を営めないということがわかります。

これは極端な例かもしれませんが、特定の環境下においては、菌がポジティブな効果を発揮できない環境もあるのです。そういった背景を詳しく知らないままに、無配慮にこうした菌を活用していくと、ひょっとすると、菌が逆に植物生産にネガティブな影響を与える効果もあることが課題として挙げられます。従って私たちは、そのメカニズムを理解していく必要性を強く感じています。

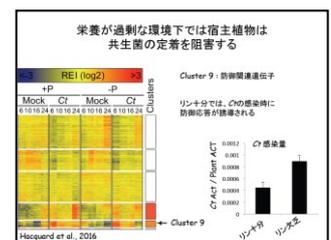
実際、この菌は、実は病原性を発揮する炭疽病菌と比較的近縁な種であることから、恐らく、この菌のゲノムの中には秘めたる病原性というのが存在するので、いかに病原性を暴発させないようにする、そのための方策を考える必要があると思います。そのためには、この菌と病原菌がどういった点で違うのかといったことを明らかにしていく必要性もあると考えています。

また、先ほど肥料を加えていない区においては、植物成長を促すと言いました。一方で、人工肥料をたんまり加えた区においては、菌をかけても成長を促すことはありませんでした。これはシロイナズナを使い、実験室で行った場合でもリンが十分に存在する場合においては、「C t」の効果認められない結果と同様です。

つまり、人工肥料を与えてしまうと、共生が阻害されてしまうということがわかります。この問題を解決しないと、現状の農業現場にこの菌を適用するという事は困難だと考えています。共生を阻害しないような肥料のタイプの探索や人工肥料が共生を阻害する仕組みなど、圃場実験や実験室環境下を相互に行き来することによって理解していく必要性があると考えています。



一方で、共生が阻害されることと相関して、観察される植物応答については少しだけわかっています。栄養過剰な環境下では何が起きているのかを見ると、実は共生菌をかけた際、リンが十分に存在する場合においては、特定のタイプの植物の防御関連応答が、この菌に対して激しく起きることが分かっています。つまりリンが十分に存在すると、植物はむしろ共生菌を除外しようとする傾向があることが分かってきました。ということで、人間風に言えば、菌というのは必要な時にだけ必要で、いらぬ時に植物というのは徹底的に除外しようとする存在と考えられます。こういった応答を引き起こさないためにはどうすれば良いのか、ということを考えていく必要性があります。さらなる研究により、実は植物がリン欠乏に適応することに必要な仕組みとしてわかってきたような応答が、その防御応答の活性化を制御することが見えてきました。今後はこうした仕組みを理解していくことによって、植物が共生菌に対しては過剰な防御応答を引き起こさないような仕組み、というものも開発していけるのではないかと考えています。



この共生効果というのは、もちろん土壌によって当然大きく変わります。例えば、土壌タイプ1、これらはすべて栄養が少ない培地なのですが、これは成長を促すし、土壌2においても成長を促しますが、土壌3は、菌をかけても成長は、少なくとも地上部は促さない。また一つの土壌タイプに対して、滅菌作業を行って微生物を枯死させた場合と、していない場合を比べたものですが、例えば滅菌作業においては、先ほど言った *cyp79B2 cyp79B3* 変異体では植物は「C t」をかけると死ぬのですが、滅菌していない区においては、死なないわけです。

実際問題、トリプトファン二次代謝物が無くても、他の微生物が存在するような土壌では、少なくとも植物は枯死しないことから、こういった土壌や根圏に存在する他の微生物の相互作用を活用することによって、特定の共生菌の効果を高められることができるのではないかと思います、そういうパートナーとなりうる微生物を探すために現在研究も行っています。

そこで将来展望ですが、やはり実験室だけではダメですし、フィールド環境だけでもダメです。双方で得られた知見をそれぞれ活かすことによって、どちらかの環境下では見つかっていなかった、意外な現象、結果、微生物による効果などを発見し解析できるということは、自分の体験として分かって来ました。

また、やはり共生の基盤となるメカニズムは、病原菌応答におけるメカニズムと比べても分かっていないことが多いことです。こういった基盤を植物や菌双方の観点から理解していく必要性があり、そういった意味で今回ご紹介した実験系は、優れた特性を持っているのではないかと考えています。

さらには、共生菌や他の根圏微生物群を組み合わせることで、共生効果を安定して発揮させるような、いわゆる微生物カクテルとして、微生物を与えることによって発揮させるような技術を開発していきたいと考えています。最終的には、やはり微生物資材の活用を視野に入れて、大量な肥料や農薬を与えないような、しかしながら生産性を維持できるような農法というものを、これから徐々に考えていくことができれば、個人的にはすごくうれしいと考えています。

最後に、以上の方々や研究機関、予算面での支援を受けてこれまで研究を行ってきました。今回は、ありがとうございます。