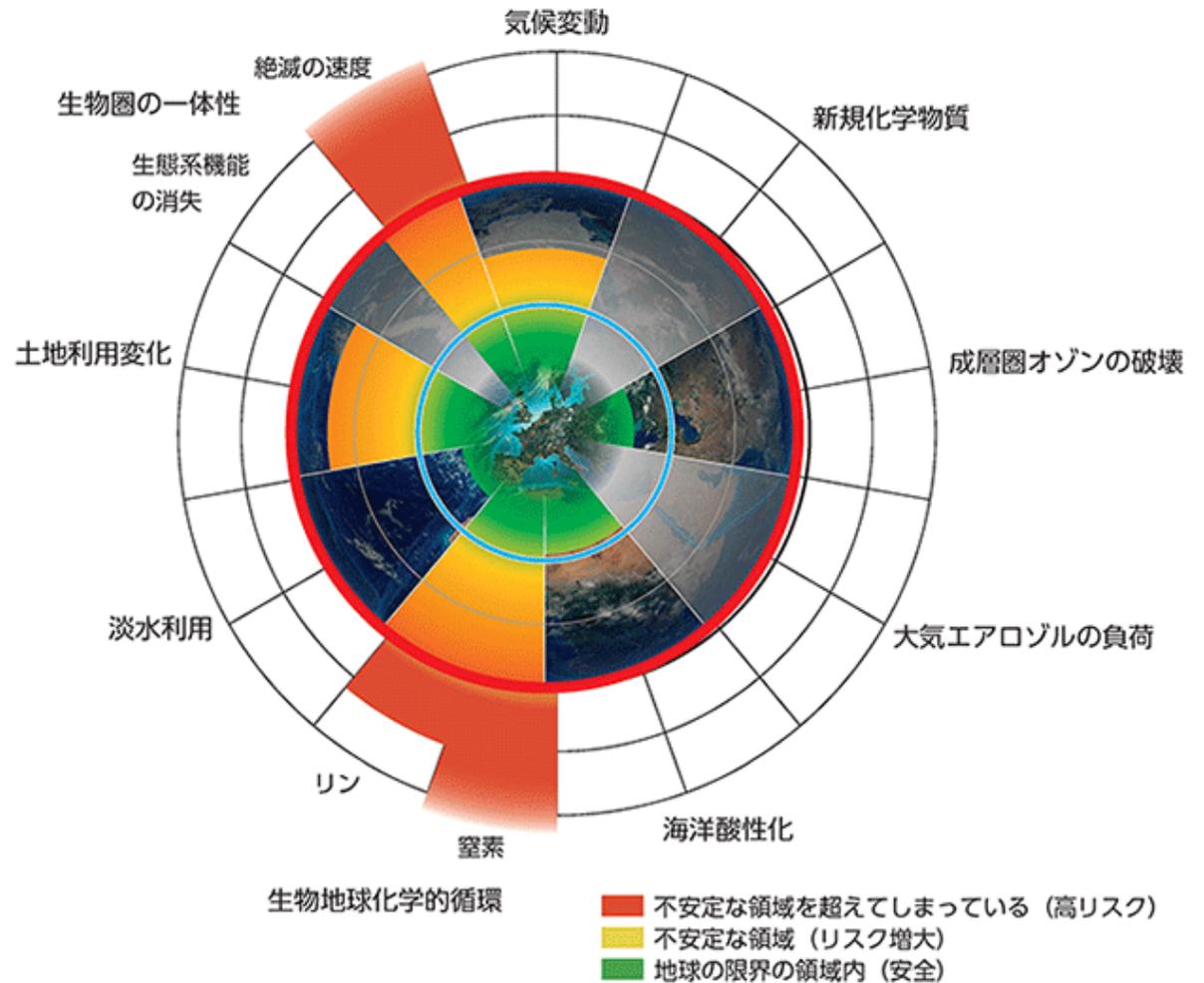
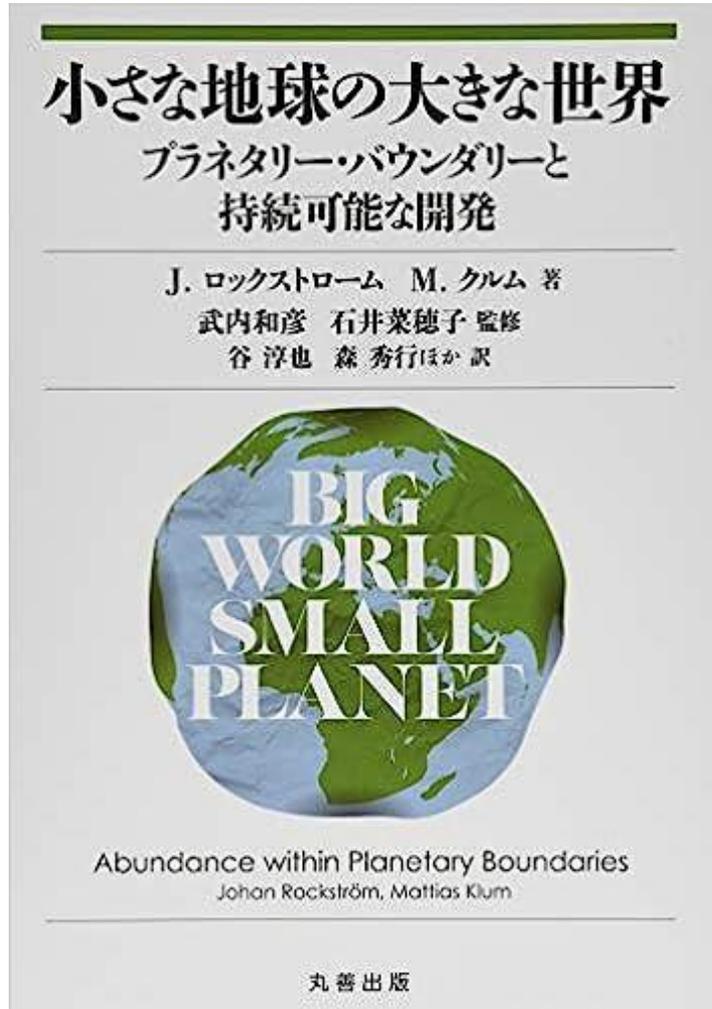


SDGs農業を促進する共生微生物 の培養・貯蔵技術

信州大学 農学部 農学生命科学科
教授 齋藤 勝晴

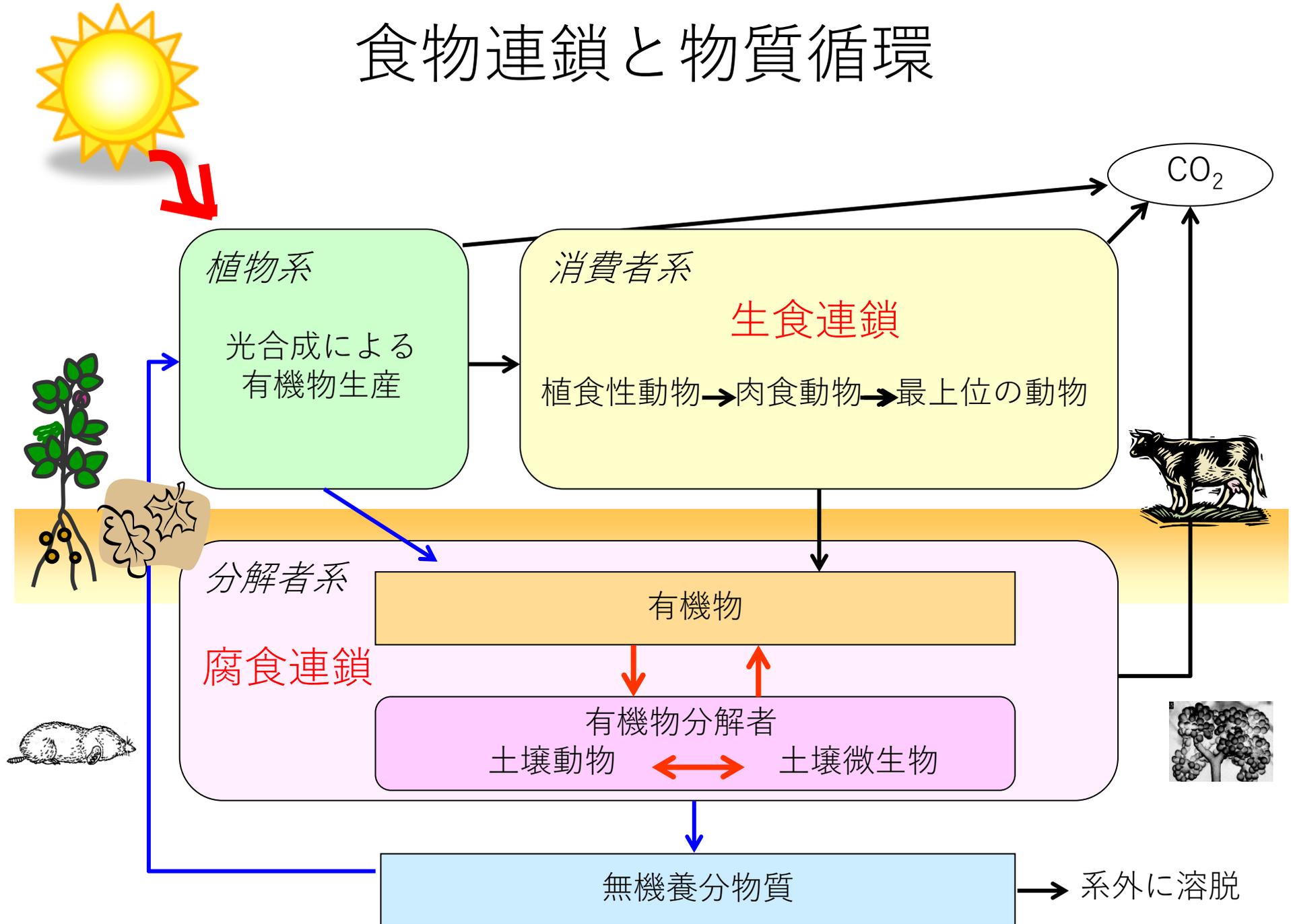
2023年8月3日

プラネタリー・バウンダリー

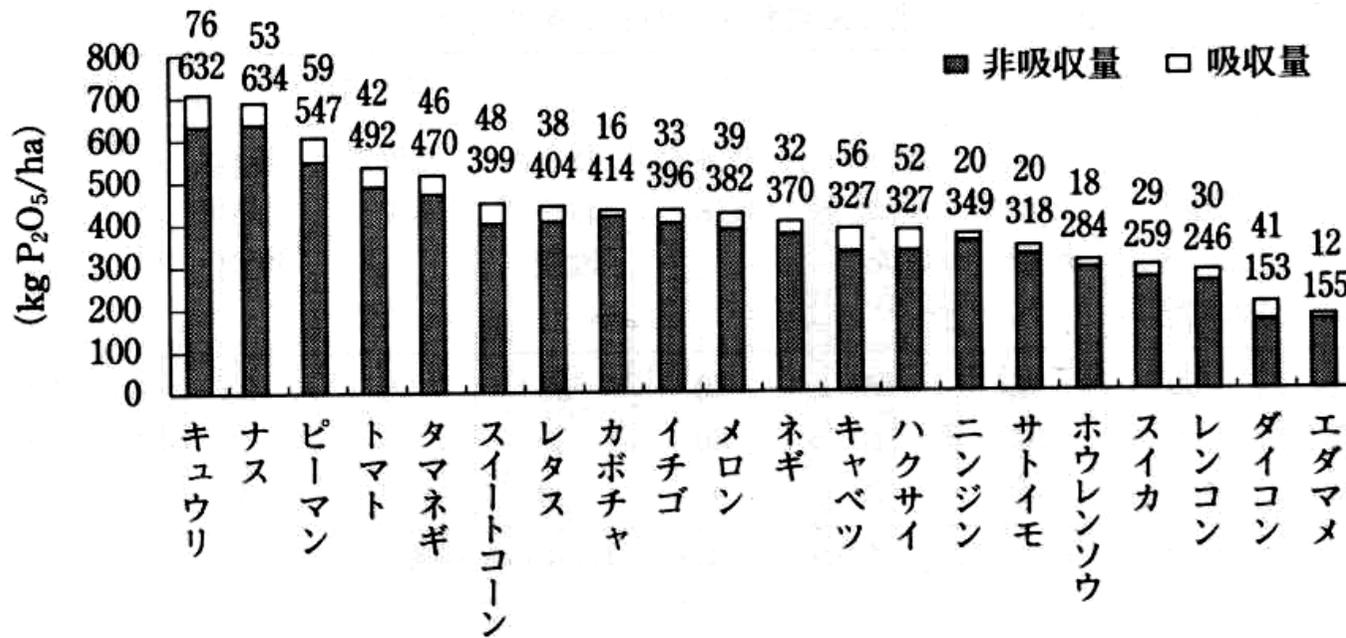


資料: Will Steffen et al. [Guiding human development on a changing planet]

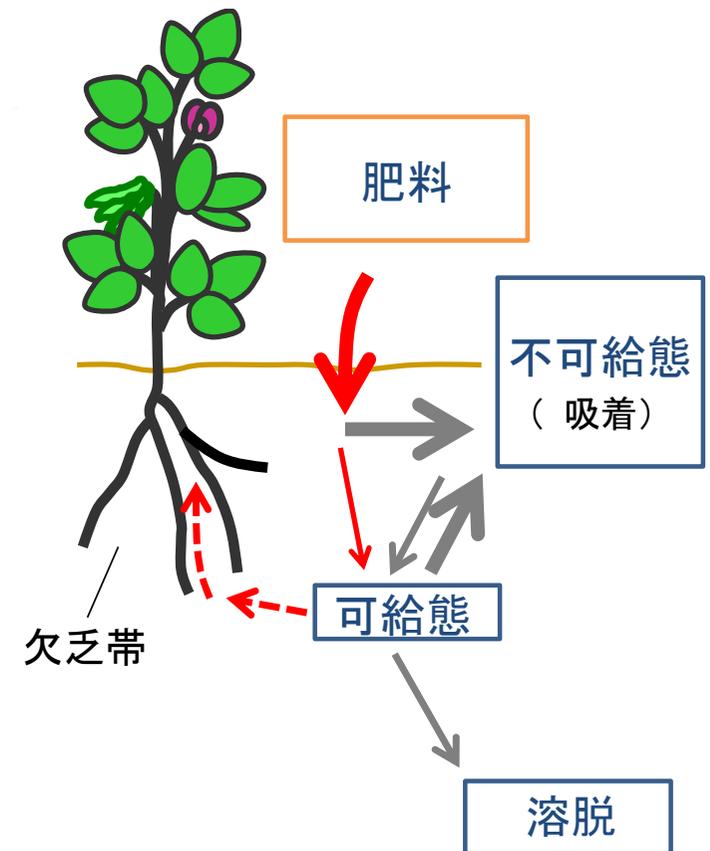
食物連鎖と物質循環



農業におけるリン酸質肥料の利用性



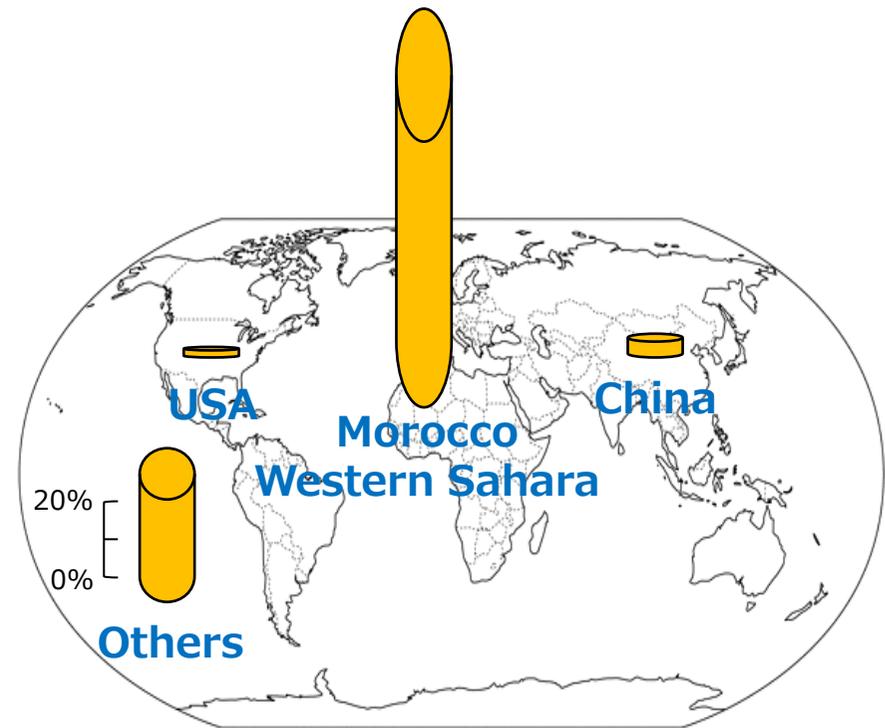
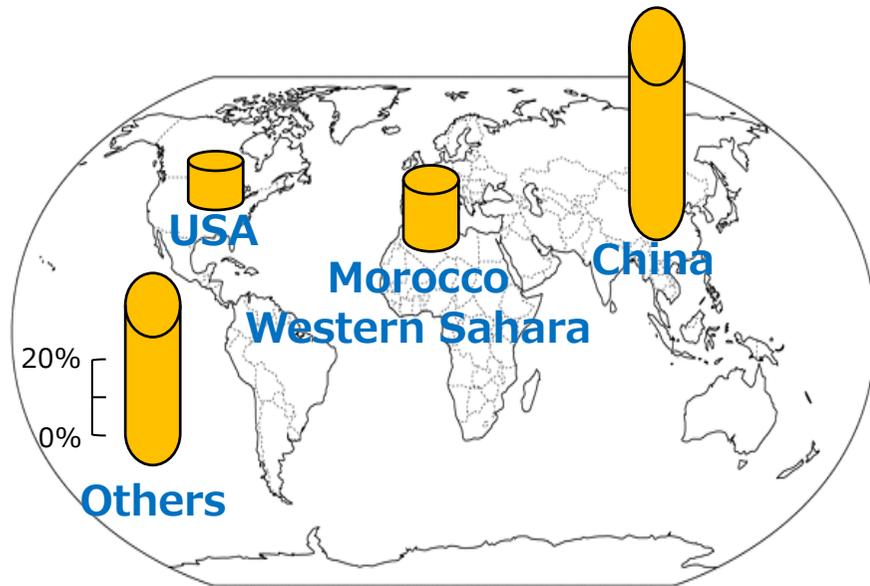
西尾道徳「農業と環境汚染」より



リン鉱石 —リン酸質肥料の原料—

リン鉱石生産量
227 Mt (2019)

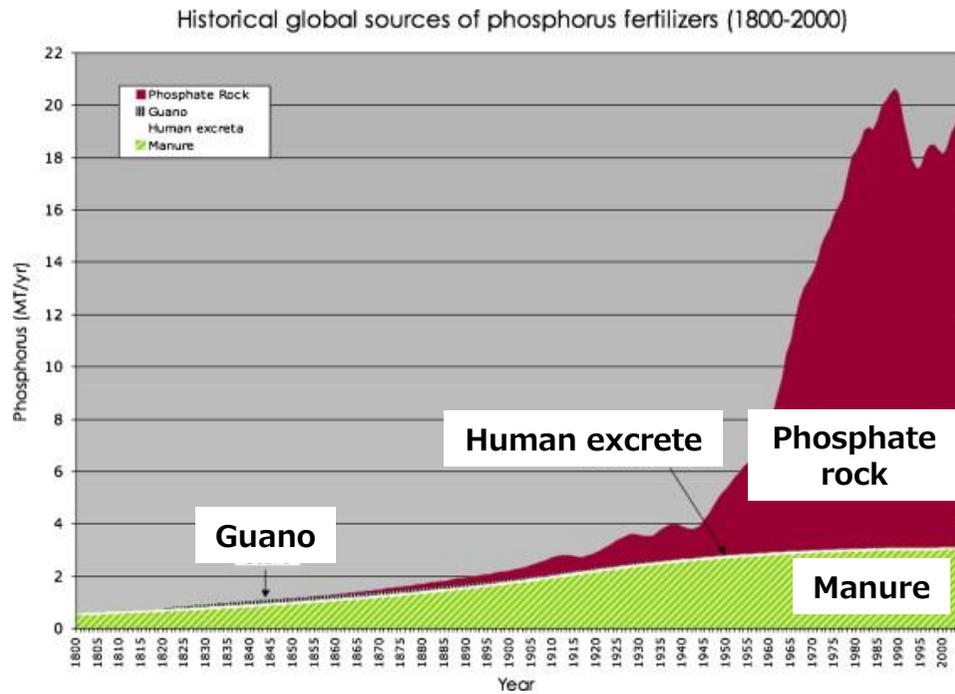
リン鉱石埋蔵量
71,000 Mt



USGS Mineral Commodity Summaries

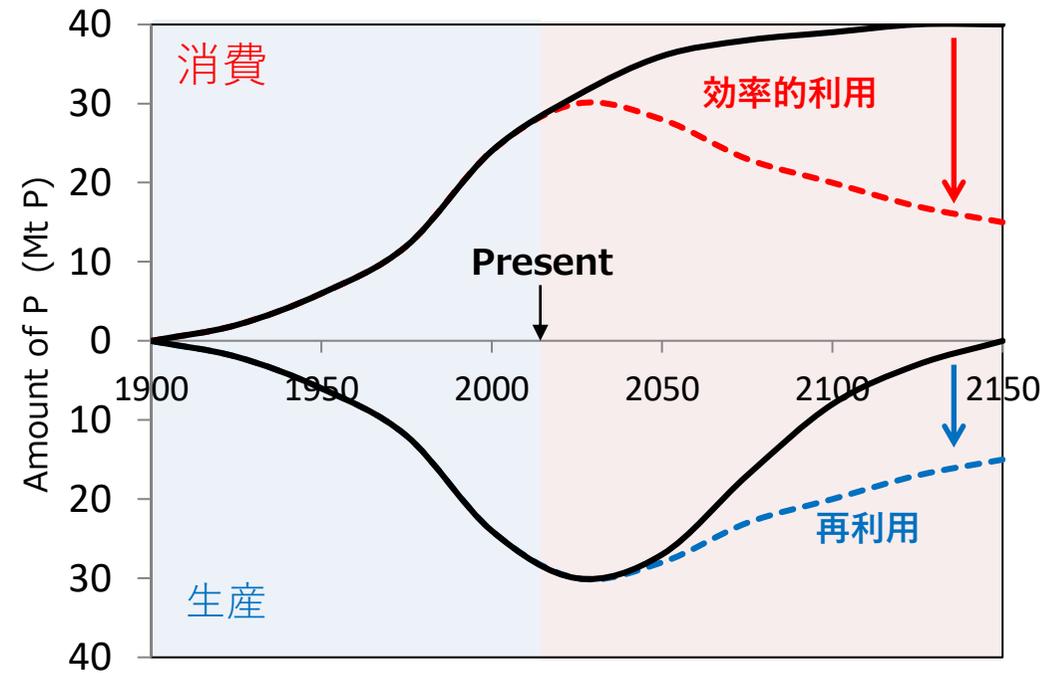
リン資源利用のシナリオ

リン資源の推移



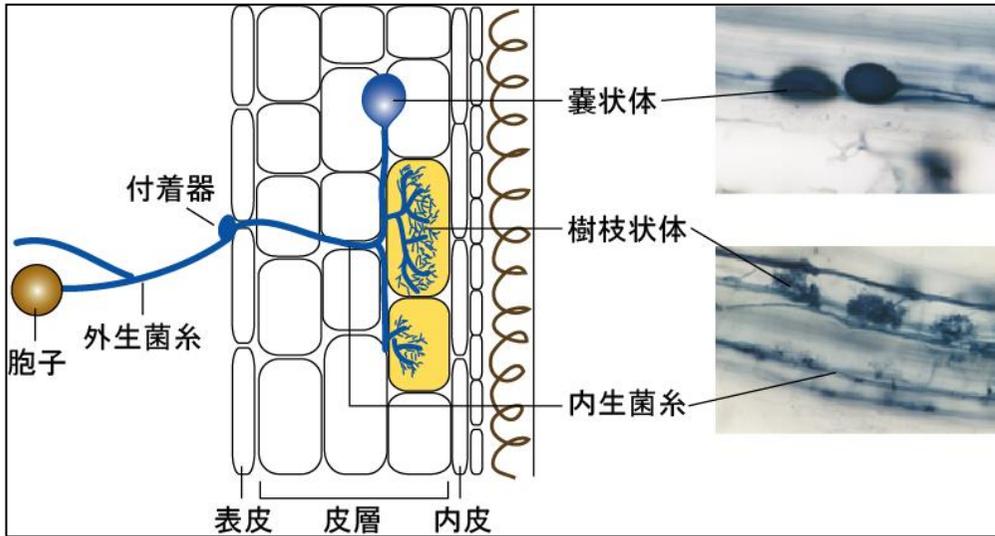
Cordell et al. (2009)

リン資源利用のシナリオ

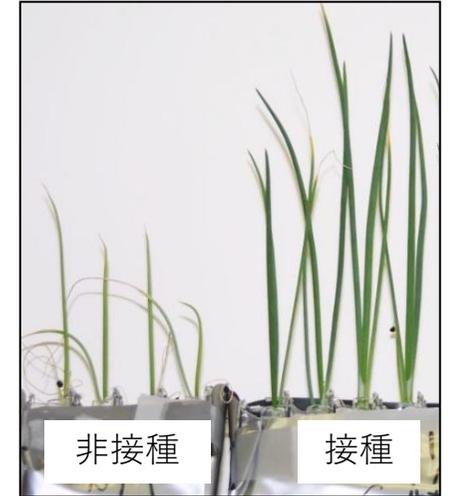


Cordell et al. (2009, 2011) modified

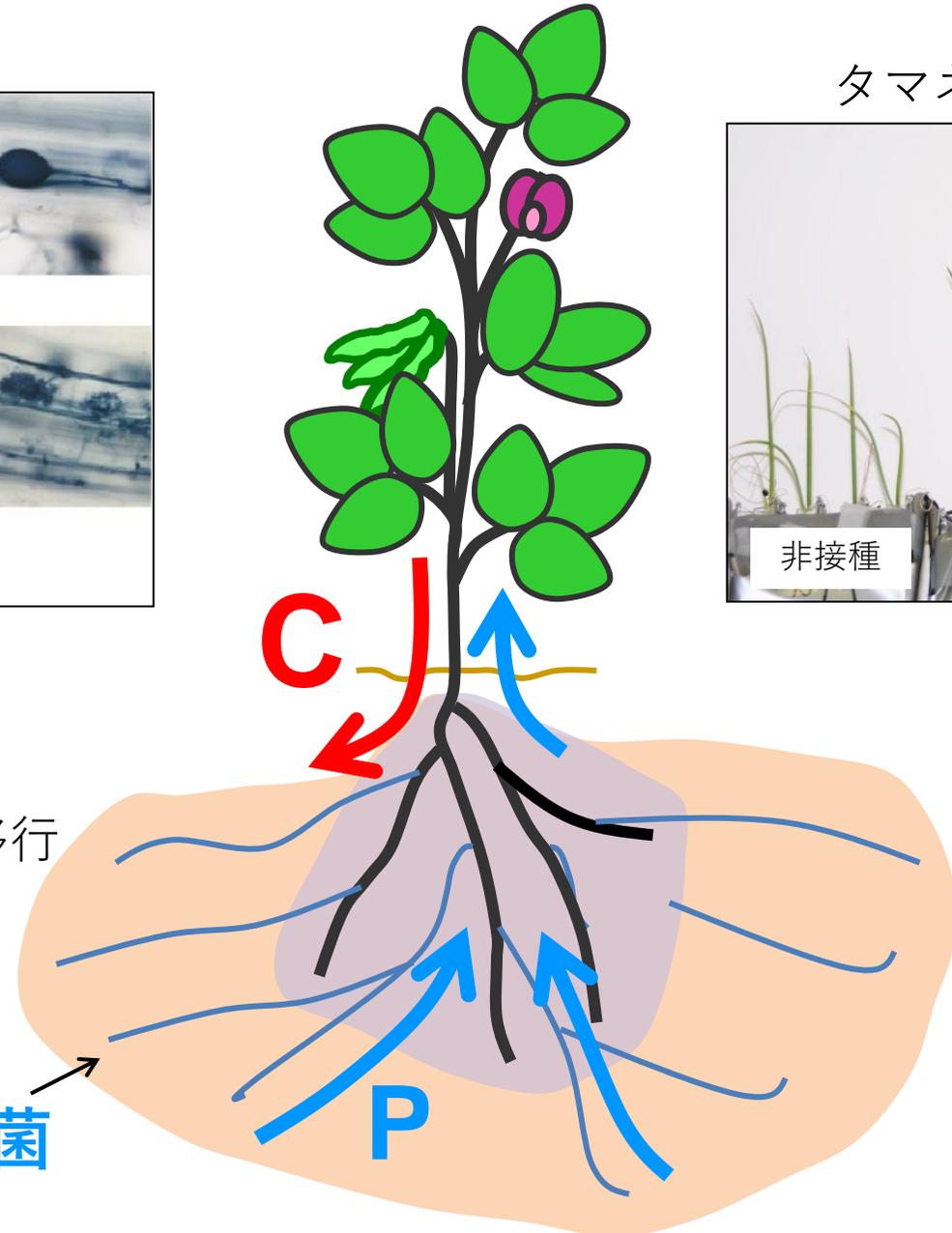
アーバスキュラー菌根共生



タマネギ



- 共生菌は土壌養分を植物に供給
- 光合成産物の約2割が共生菌に移行

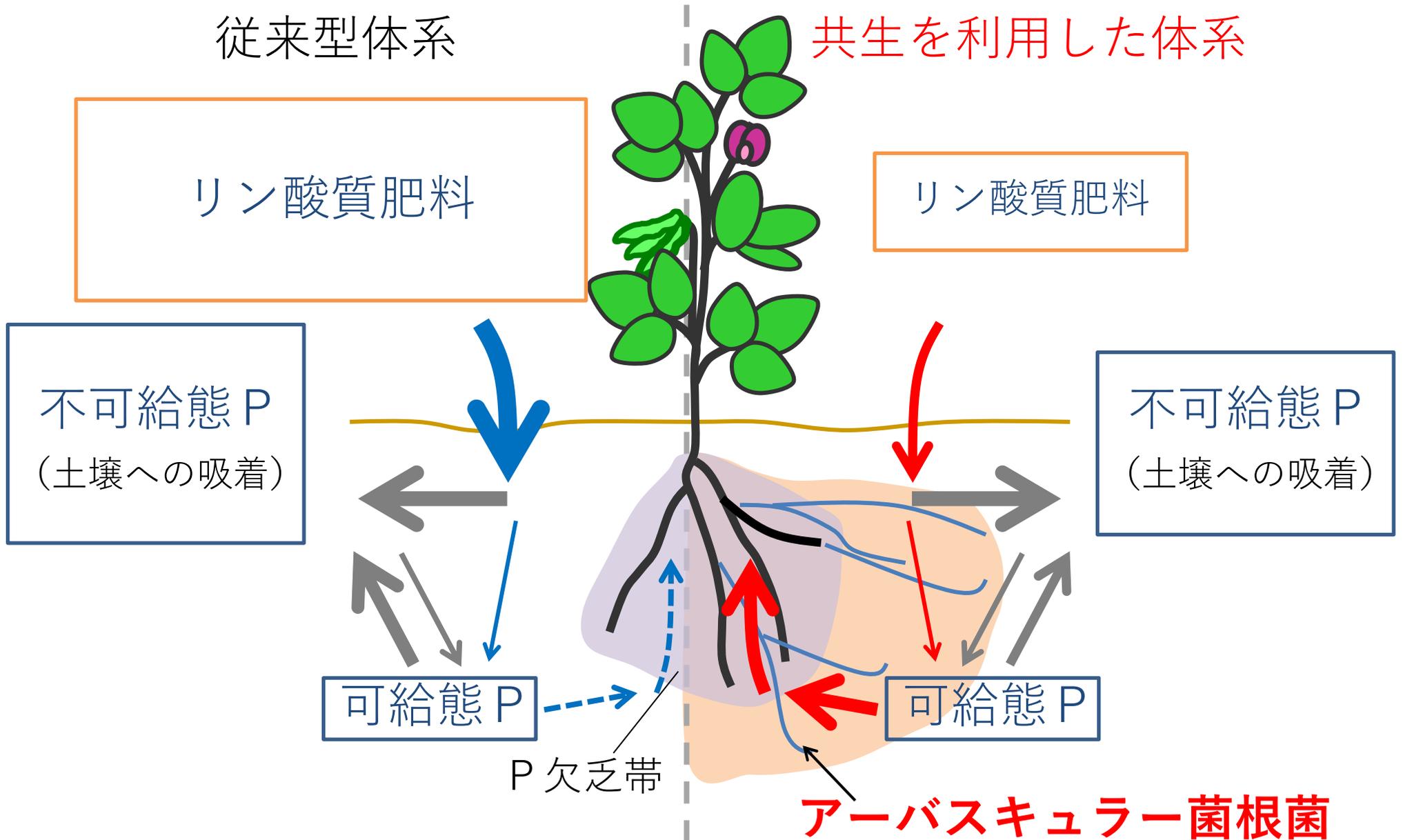


アーバスキュラー菌根菌

アーバスキュラー菌根共生の利用

従来型体系

共生を利用した体系



アーバスキュラー菌根菌資材生産の課題

菌根菌資材の製造工程



In vivo 共存培養

Conventional process

Production of host-plant in greenhouses



In vitro 共存培養

In vitro process

Production under controlled environmental conditions using root culture

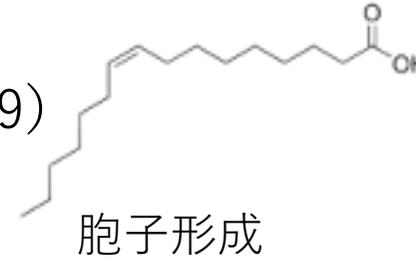


Premier Tech社 (<http://www.slideshare.net/unlautahgreen/mycorrhizae-benefits-atul-nayar-mon-jan-25-at-2>)

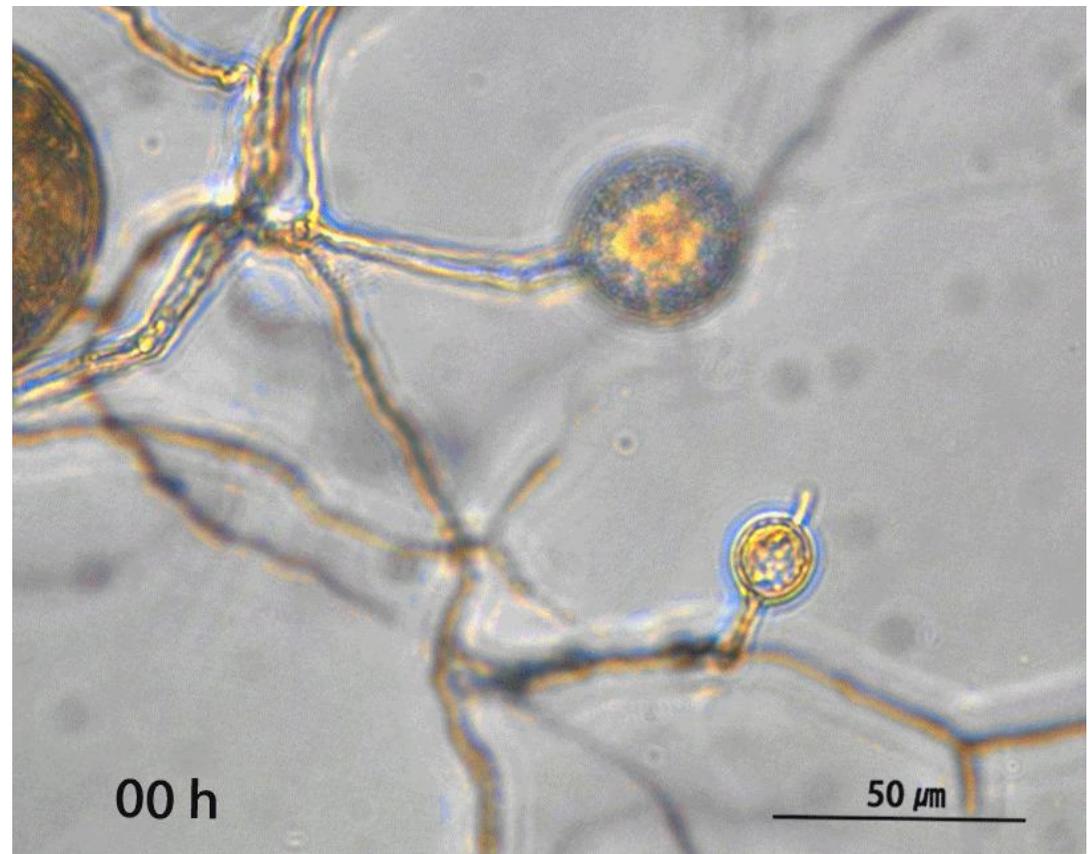
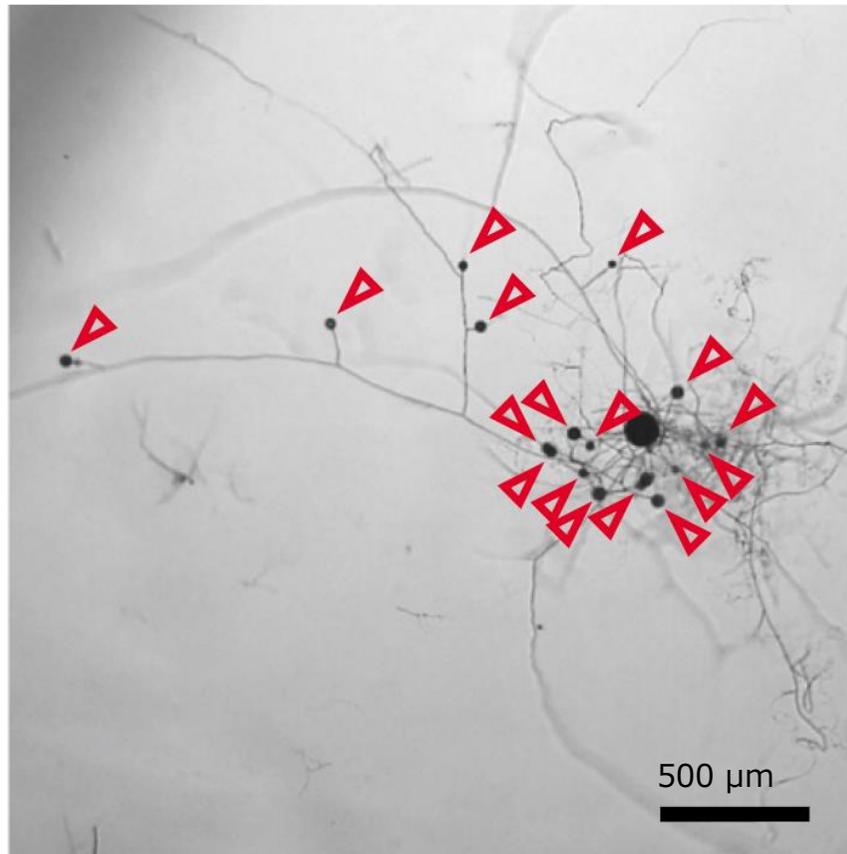
植物との共存培養が必要なため、資材や労力、時間、スペースの面から高コスト

パルミトレイン酸は非共生下で孢子形成を誘導

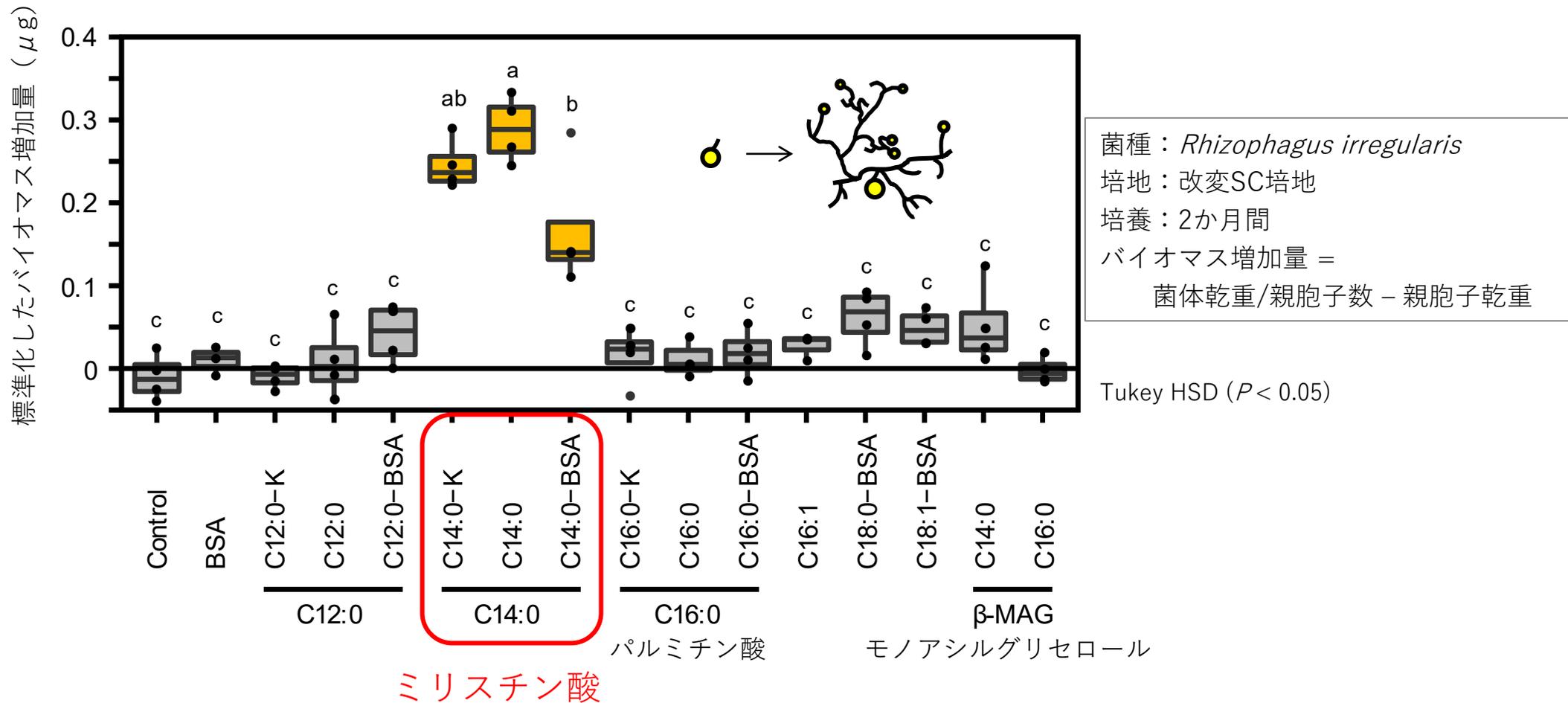
パルミトレイン酸 (C16:1 Δ9)



*Rhizophagus irregularis*の培養



ミリスチン酸は非共生的成長を促進

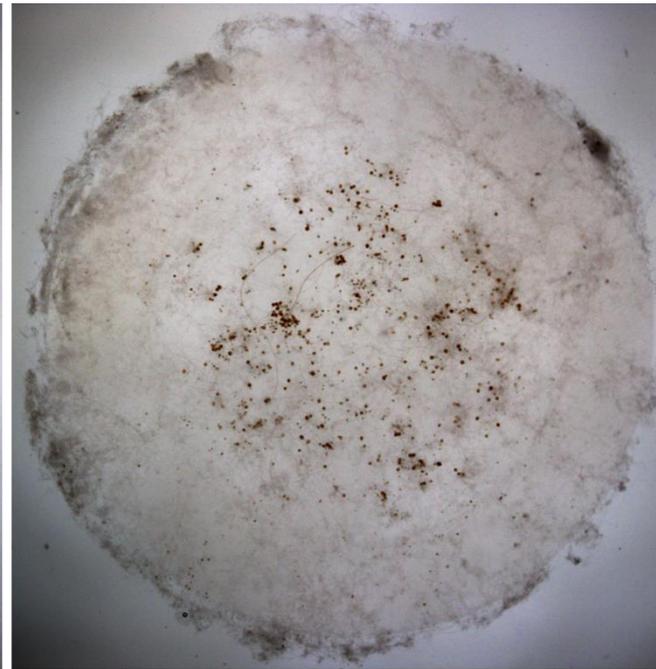


ミリスチン酸のみがAM菌のバイオマスを増大

菌根菌の単独培養に成功

コントロール

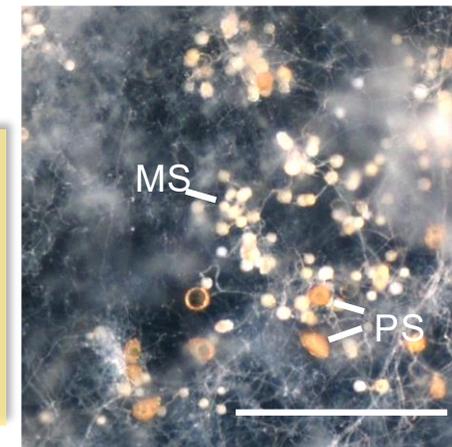
ミリスチン酸



Sugiura et al. (2020) PNAS 117: 25779-25788.

ミリスチン酸を添加することで菌根菌のバイオマスや孢子生産が増大することを初めて明らかにした。

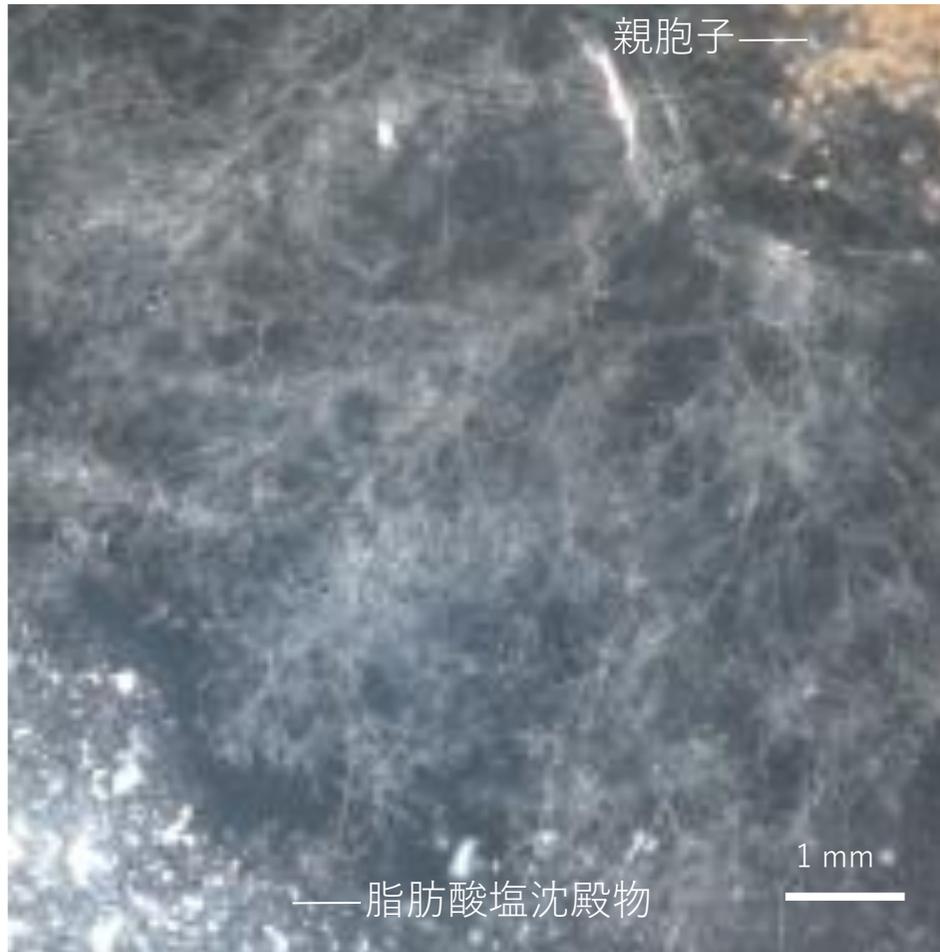
—> 新たな資材開発が可能となる。



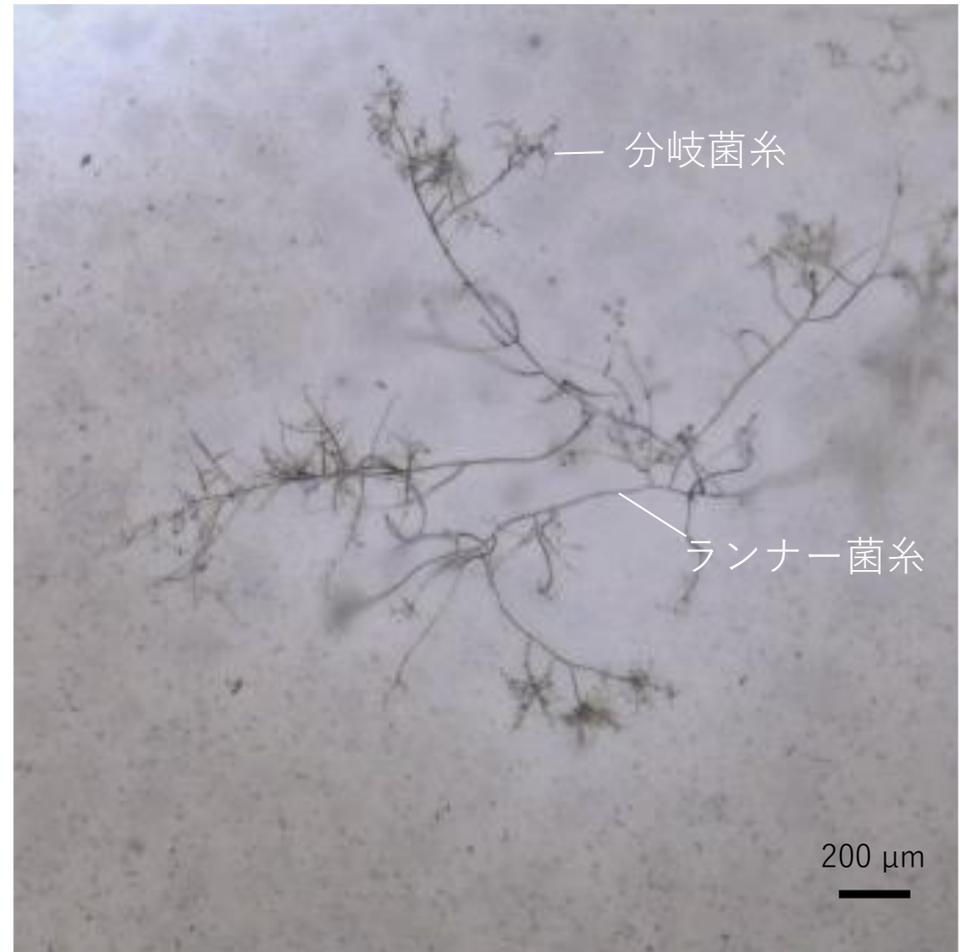
MS: ミリスチン酸誘導孢子
PS: 親孢子

菌根菌の単独培養に成功

菌糸伸長



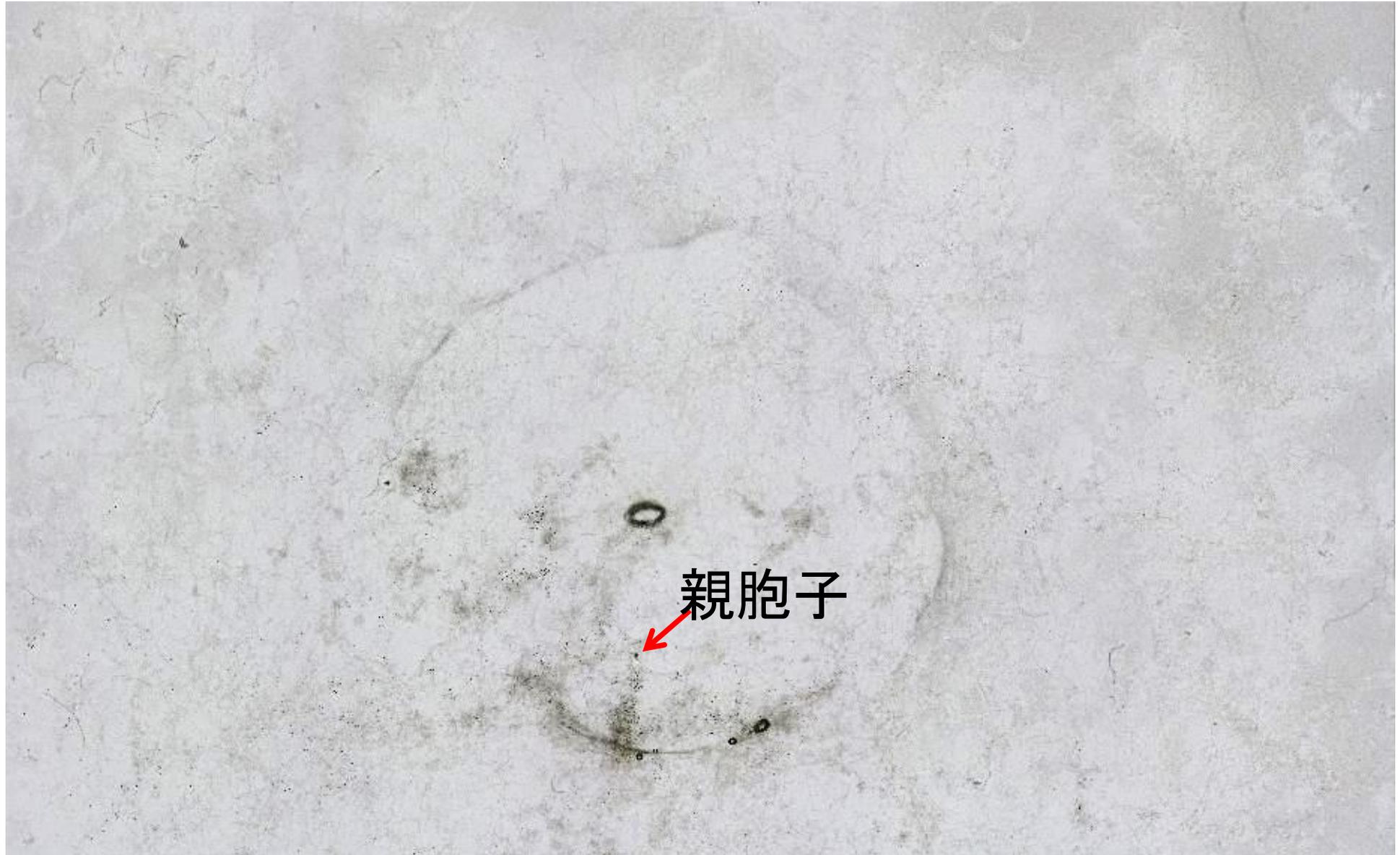
分岐菌糸形成



Sugiura et al. (2020) PNAS 117: 25779-25788.

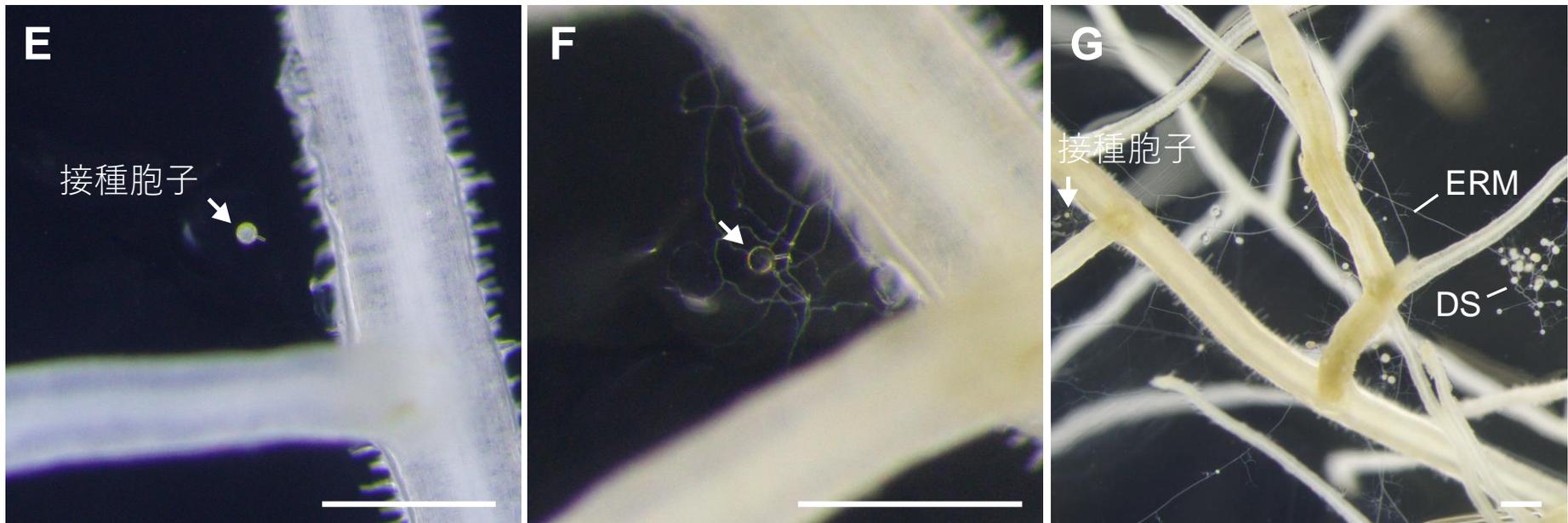
*R. irregularis*を改変SC培地で2ヶ月間培養。1 mM ミリスチン酸カリウムを添加。

菌根菌の単独培養に成功



菌根菌の単独培養に成功

接種実験



Sugiura et al. (2020) PNAS 117: 25779-25788.

DS: 娘孢子, ERM: 外生菌糸

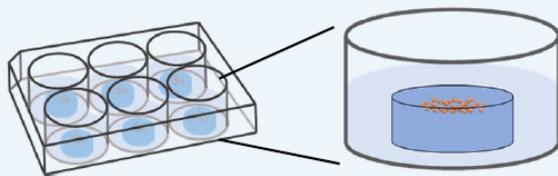
菌根菌純粋培養の課題

- 低温貯蔵後に孢子発芽能を失う。
- 増殖速度が遅いため、大量培養が困難である。
- 孢子成熟度が低い。

低温貯蔵性の評価法

① AM菌培養

1. 純粋培養（固定化培養法）



処理区（添加脂肪酸）

A : Myr-K

B : Myr-K + Pal-K

Myr-K: ミリスチン酸カリウム

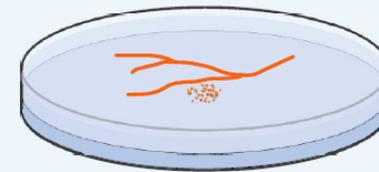
Pal-K: パルミチン酸カリウム

1. 0.3%phytagelで*R. irregularis*の孢子を固定化
2. プレートに固定化孢子と液体培地を加える
3. 脂肪酸を添加
4. 28°C で2ヶ月間培養し、次世代孢子を回収

液体培地

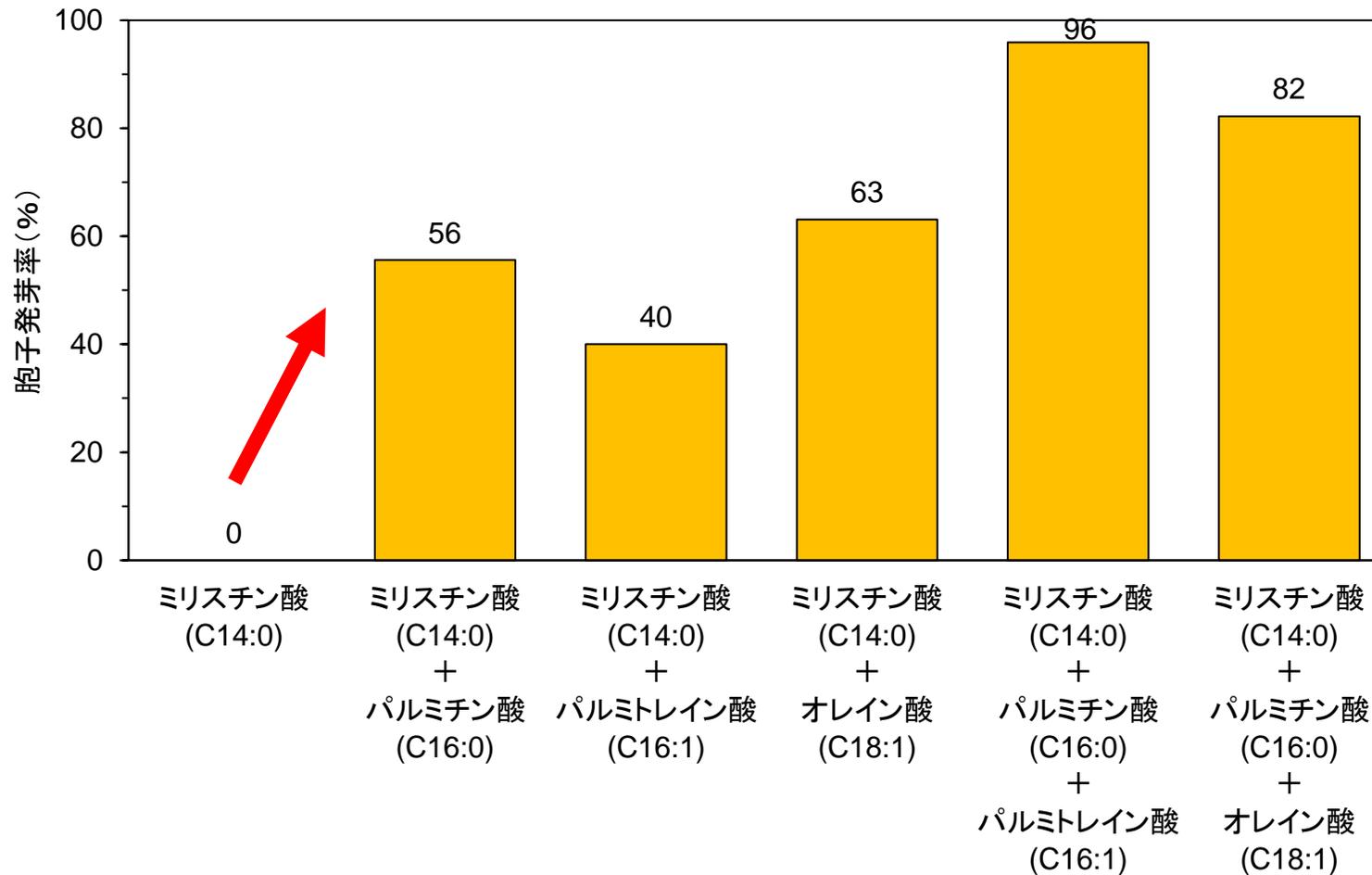
- 0.2% SC
- 0.17% YNB
- 2.5 mM (NH₄)₂SO₄
- 5 mM glycerol
- Vitamins

2. 毛状根との共培養



1. 改変M培地でニンジン毛状根を増殖
2. 毛状根に*R. irregularis*の孢子を接種
3. 28°C で4.5ヶ月間培養
4. 娘孢子を回収

脂肪酸ミックスにより低温貯蔵性の問題を克服



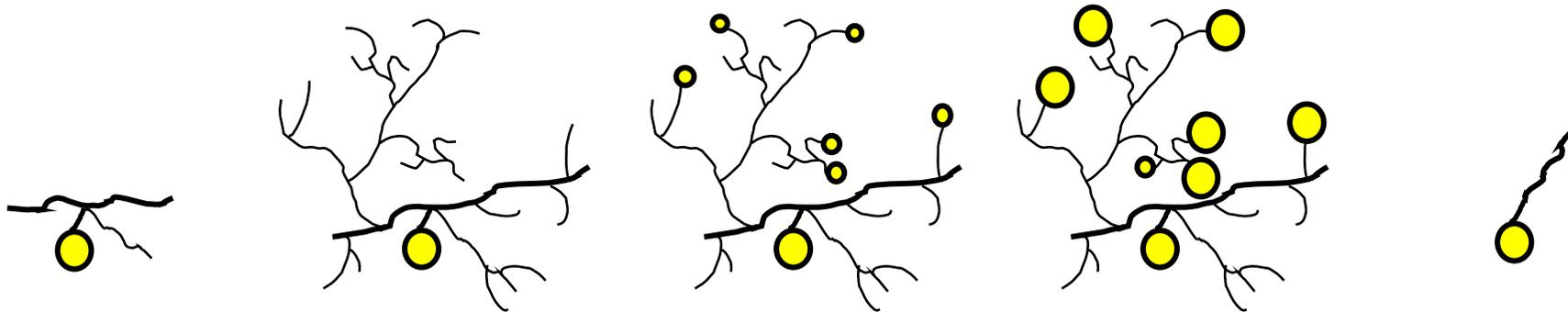
アーバスキュラー菌根菌の低温耐性に対する脂肪酸の組み合わせの影響

改変SC培地に各脂肪酸の組み合わせで添加し *Rhizophagus irregularis* (植物との共培養で生産された孢子 (500孢子)) を4か月間純粋培養した。1か月間 4℃で低温処理したのち素寒天で発芽させた。発芽処理後4週間以内に発芽管を伸長させたものを発芽孢子とした。

純粹培養による菌根菌の資材化に向けて

胞子成熟化 → 成熟化因子の探索

増殖効率 → 脂肪酸の利用性向上、脂肪酸の組み合わせ



胞子発芽

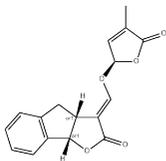
栄養成長

胞子誘導

胞子成熟

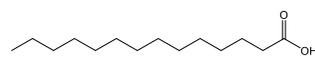
低温貯蔵

ストリゴラクトン



Akiyama et al. **Nature** (2005)
Tanaka et al., **bioRxiv** (2020)

ミリスチン酸



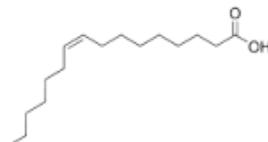
Sugiura et al. **PNAS** (2020)

?

脂肪酸ミックス

特願2023-082755

パルミトレイン酸



Kameoka et al. **Nature Microbiol.** (2019)

従来技術とその問題点

既に実用化されている菌根菌資材の製造法には、植物との共生による共培養法等があるが、

- ・ 植物病原菌などの雑菌が混入するリスク
- ・ 年1回しか製造できず、製造工程も煩雑

等の問題があり、広く利用されるまでには至っていない。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 新技術により、アーバスキュラー菌根菌の純粋培養が可能になり、しかも生物活性を保ったまま低温貯蔵できる。
- 従来法では、菌根菌資材を年1回程度しか製造できなかったが、周年的に製造できるようになった。
- 本技術の適用により、雑菌混入のリスクが少ない菌根菌資材を常時供給できることが期待される。

想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、アーバスキュラー菌根菌資材の製造に適用することで資材開発や製造コストを削減できるメリットが大きいと考えられる。
- 上記以外に、高品質の菌根菌資材が得られることも期待される。
- また、本技術で製造された菌根菌資材を、農業や緑化といった分野に展開することも可能と思われる。

実用化に向けた課題

- 現在、アーバスキュラー菌根菌の純粹培養について、培養産物の低温貯蔵が可能のところまで開発済み。しかし、大量培養の点が未解決である。
- 今後、菌根菌増殖率の向上について実験データを取得し、大量培養による資材化に適用していく場合の条件設定を行っていく。
- 実用化に向けて、培地製造技術を向上できるように技術を確立する必要もあり。

企業への期待

- 未解決のアーバスキュラー菌根菌の増殖については、純粋培養・貯蔵技術により克服できると考えている。
- 微生物用培地製造技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- また、微生物の培地を開発中の企業、環境保全型農業や緑化分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：アーバスキュラー菌根菌の保管方法
および微生物資材
- 出願番号：特願2023-082755
- 出願人：国立大学法人信州大学
- 発明者：齋藤勝晴

産学連携の経歴

- 2021年- (株) 松本微生物研究所と共同研究実施

お問い合わせ先

株式会社信州TLO 

T E L 0268 - 25 - 5181

F A X 0268 - 25 - 5188

e-mail info@shinshu-tlo.co.jp