

SICORP 日本-スペイン-ドイツ

「食料及びバイオマスの生産技術」領域 事後評価報告書

1 共同研究課題名

「植物病原体：環境条件の変化の下における真菌を用いた作物の収量と品質の向上法」

2 日本－相手国研究代表者名（研究機関名・職名は研究期間終了時点）：

日本側研究代表者

伊藤 紀美子（新潟大学・教授）

スペイン側研究代表者

ハビエル・ポズエタ＝ロメロ（スペイン高等科学研究院・教授）

ドイツ側研究代表者

モハマド＝レザ・ハジレザエイ（ライプニッツ植物遺伝学作物研究所・シニアサイエンティスト）

3 研究概要及び達成目標

本課題では乾燥・高 CO₂・高温などの環境ストレス下において、病害性糸状菌 *Alternaria alternata* の培養抽出濾過液（Cell Filtrates, CFs）あるいは、非接触共存培養処理による揮発性化合物（Volatile Compounds, VCs）を介した作物の収量増および機能性の向上についてトマトならびにイネを用いて検証を行う。さらに、トランスオミクス解析により *A. alternata* VCs の成長調節機構について解析し、オミクスデータと農業形質データベースの統合モデルを構築することを目指した。具体的には、スペイングループが異なるトマト品種を様々な灌水条件下、*A. alternata* CFs 処理栽培し、形質評価を行った。日本グループは、異なるイネ品種を高温・高 CO₂ 条件下 *A. alternata* VCs 処理栽培すると共に形質評価を行った。上記条件で栽培したイネに対して、日本グループはトランスクリプトミクスならびにプロテオミクスを、トマトに対してはプロテオミクスを、スペイングループはトランスクリプトミクスを、ドイツグループはメタボロミクスおよびイオノミクスを、チェコグループはフェノミクスおよびホルモノミクスを実施し、各種ストレス条件下における *A. alternata* VCs が形質に及ぼす影響を網羅的に解析した。また、イネにおけるバイオマーカーを探索し、高温・高 CO₂ 耐性を有する形質転換イネの開発とオミクスと農業データベースの統合モデルの構築を行うことを目指した。

4 事後評価結果

4.1 研究成果の評価について

4.1.1 研究成果と達成状況

スペイングループが、種々の灌水条件下におけるトマト栽培に病原性真菌 *A. alternata* 菌糸由来の培養抽出濾過液（Cell Filtrates, CFs）を施用し、栽培評価を行った。温室・圃場栽培双方において、CFs がトマトの収穫量を増大させるとともに、灌水制限下におけるトマトの乾燥耐性が強化された。さらに、各種

条件で栽培したトマトの葉のマルチオミクス解析が実施され、CFs 施用がジャスモン酸・活性型サイトカイニンの増大を通じて乾燥ストレス抵抗性を向上させること、抗酸化性のある 2 次代謝産物が産生され、耐性強化に繋がった可能性を示唆した。これらの結果をもとに、CFs 施用による植物の制御機構の統合的なモデルを構築するとともに、関連の研究について総説を発表した (Gamez-Arcas S et al., 2021, J Exp. Bot. 73, 498)。

日本グループでは、イネにおける検証に先立ち、*A. alternata* 日本株の効果をシロイヌナズナを用いて検討した。その結果、解析した日本株 7 株がシロイヌナズナの同化デンプン量と乾燥重量を増大させたことから、日本株を用いた検証をイネで行った。*A. alternata* 菌糸由来の Volatile Compounds (VCs) 処理によりイネのバイオマス増大・生育促進・収量増大・高温・高 CO₂ ストレス耐性の強化を認めた。しかし、処理条件 (高濃度 VCs 処理した高温・高 CO₂ 処理区) においてバイオマスの低下が認められたことから、開放系における低濃度の VCs 処理の効果を高温・高 CO₂ 条件において検討した。冬季栽培において対照区の種子稔性は 20%程度であったが、VCs 処理区では 80%と上昇し、また、乾燥重量も増加していた。この結果より、温室栽培においても、VCs 処理がイネの生育、バイオマス増大、収量増大に有効であると結論づけた。

さらに、栽培したイネの葉のトランスクリプトーム、プロテオーム解析を実施し、光合成関連遺伝子の他に、サイトカイニン応答に関わる遺伝子群を特定した。また、ホルモノーム解析において活性型サイトカイニンの上昇を観察した。合わせて、ジャスモン酸合成に関与する遺伝子の発現上昇を観察した。また、光合成暗反応に関与する葉緑体型 FBA (Fructose biphosphate aldolase) 遺伝子を過剰発現するイネを作製し、その解析から、VCs 処理による FBA の活性上昇が高温・高 CO₂ ストレス環境下において光合成産物の合成と穀粒への転流を促進した可能性を推測するとともに、FBA が高温・高 CO₂ ストレス環境下における有効なバイオマーカーとして利用可能であると推論した。なお、上記解析により、イネにおいてもトマト同様、VCs がジャスモン酸・活性型サイトカイニンの増大を通じて高温・高 CO₂ ストレスに抵抗する代謝活性を向上、耐性強化に繋がった可能性が想定され、VCs による植物の制御機構の統合的なモデルに関する論文投稿が準備されている。

以上のように、国際共同研究として、バイオスティミュラントの利用に関する学術的基盤ならびに、欧州における実用化の目処が確立されたと考えられる。イネにおいても可能性が示されたが、研究成果が未発表であり、今後の公表と実用化への展開に期待したい。

4.1.2 国際共同研究による相乗効果

共同研究先と交流協定が締結され、7 回のプロジェクトミーティング、6 回の国際シンポジウム・国際学会等が実施されるなど、活発な交流を行なわれた。特に、研究開始 2 年目に複数の大学院生を研究派遣し緊密な関係が維持された。また、新型コロナウイルス (COVID-19) の感染拡大による行動制限後も、リモートによる国際シンポジウム、個別ミーティング等が活発に実施された。さら

に、他の EIG CONCERT-Japan プロジェクトメンバーとの交流や EIG CONCERT-Japan の参加機関外の海外研究者との研究交流等が活発に行われたことは評価できる。

4.1.3 研究成果が与える社会へのインパクト、我が国の科学技術協力強化への貢献

本研究により、*Alternaria alternata* 菌糸由来の揮発性化合物 (VCs: Volatile Compounds)やこれを含む培養抽出濾過液(CFs:Cell filtrates)処理により、環境ストレス条件下における作物の生育が促進されるとともに、収量増大、品質向上の可能性が示された。このような生物素材を用いたバイオスティミュラント技術は今後の発展が大いに期待される農業技術であり、その基盤となる学術的成果を国際共同によって得たことは評価できる。また、本技術は、ヨーロッパ側の共同研究グループにおいて特許申請されるとともに、産業化への道筋が検討されている。一方、イネの圃場での評価はまだ不足しており、さらなる検討が必要である。また、日本では植物病原菌由来の農業資材への農業生産者の抵抗感もある。今後の展望で示されたように、きのこ菌床由来の VCs に、本共同研究で得られた知見や技術、経験が活かされ加速度的に研究が進むことを期待する。今後、多様な作物を対象に適用が展開され、気候変動により深刻化が予測される農業現場の障害を緩和し、SDGs に貢献する食料生産技術としての普及を期待する。

4.2 相手国研究機関との協力状況について

本研究課題の遂行にあたり、栽培・応答試験、オミクス解析、形質転換体作成、統合モデル構築などのワークパッケージを各国パートナーがバランスよく分担し、協力して進めている。事業開始2年目に、大学院生3名を3か月 IAB-CSIC に派遣した実績は高く評価される。7 回のプロジェクトミーティングを行い、6 回の国際シンポジウム・国際学会を開催した。これらの共同研究先との国際的な教育研究活動が継続的・発展的に維持展開されるとともに、本事業で得られた成果の速やかな論文発表、さらには、事業で得られた成果に基づいた新たな共同研究の発展を期待する。

4.3 その他

当初3年間の予定であったが、欧州側のプロジェクトの開始の遅れとともに、新型コロナウイルス感染拡大による期間延長申請から5年間の研究期間となった。植物研究では、栽培期間が長期にわたることから、今回の延長は、結果として、研究の進展に好ましい影響を与えたと考える。一方、研究成果として、論文リストに列記されている中に事業とは関連性の低いものが含まれるとともに、日本グループの研究成果発表、特に、原著論文発表がないことは残念である。欧州側が特許申請を含め先行していることから、日本側の成果のより迅速な公表、知財化が望まれる。