

菌根共生に魅せられて

齋藤雅典*

目 次

1. はじめに：冷害・災害とともに
2. 菌根共生とは何か
3. アーバスキュラー菌根菌との出会いからカルチャーコレクションへ
4. 植物と菌の物質交換：炭素とリン酸
5. アーバスキュラー菌根菌の農業利用：フィールドでの接種効果
6. 荒廃土壌における植生回復とアーバスキュラー菌根菌の動態：ピナツボ
火山泥流地帯と雲仙普賢岳火砕流跡地での調査
7. 最後に

* (元) 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター

1. はじめに：冷害・災害とともに

私が、大学院を終え、盛岡の東北農業試験場（現在の農研機構・東北農業研究センター）に赴任したのは1981年（昭和56年）であった。その後、英国留学、草地試験場（現、農研機構・畜産飼料作研究拠点）、農業環境技術研究所（現 農研機構・環境変動研究センター）を経て、2008年（平成20年）に東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター（以下、川渡フィールドセンター）に三枝正彦先生の後任として採用され、10年間を川渡で過ごし、2018年（平成30年）3月に定年退職し研究生活に区切りをつけた。

振り返ってみると、私は異動とともに冷害を連れて歩いたようであった。東京から盛岡へ赴任して最初の仕事はダイズの栽培試験であったが、1981年は、春先に異常な低温が続き、5月の半ば過ぎにジャンパーを着込んでダイズの種まきしたことが忘れられない。夏になっても低温が続き、東北の太平洋側は遅延型冷害となり、前年1980年（昭和55年）に続き、2年続きの大冷害であった。宮沢賢治の「おろおろ歩き」を実感することとなった。ちょうど東北農業試験場では、金野隆光博士が土壤窒素の速度論的解析法を開発し、東北地域の土壤肥料研究者の間で、冷害等の気象変動に対応した施肥技術を開発するために、速度論的解析手法を用いた研究開発を進めていく気運が高まっていた。そこで、各県農試と連携して連絡試験を進めた。私もその一員として連絡試験に積極的に関わった（東北地域土壤窒素無機化パターン研究グループ 1988）。この時に培った東北各県の土壤肥料研究者とつながりは、その後もおおいに役立った。そのような研究を進めつつ、後述するように、菌根菌の研究を始める機会があり、幸いにして菌根菌を学ぶために、当時の科学技術庁派遣制度で1987～88年に英国に留学する機会が得られた。私が帰国した1988年もやはり冷害であった。秋には冷たい雨が続き、昭和天皇の体調悪化もあって、日本国中が沈んでいた。

英国留学の成果を活かして菌根菌の研究を続けていたが、組織改編もあっ

て、菌根菌を研究課題の中心として進めることに難しさを感じていた頃、栃木県・西那須野（現在の那須塩原市）の草地試験場・土壤微生物研究室へ異動することとなった。この異動の1993年（平成5年）は、北日本を中心に全国的に大冷害の年であった。米不足でタイなどから米を緊急輸入した年である。その年の秋、栃木県北の試験場近隣の田んぼは黄金色ではなく、イモチ病できたならしい茶色に化していた。草地試験場では、土壤微生物研究室を任せられ、また大型の競争的研究資金獲得という幸運もあり、菌根菌の研究テーマを中核として研究を進めた。ちょうど50代に入った2002年秋、つくばの農業環境技術研究所へ異動し、約5年間、研究管理業務に携わることとなった。いくつかの大きなプロジェクトのリーダーとして研究プロジェクトの立ち上げや取りまとめなどのコーディネーター業務を務めた。

2008年に東北大学農学部の附属農場である川渡フィールドセンターへ異動した。川渡での十年間、大きな冷害はなかったが、地震などの災害続きであった。着任して間もない平成20年6月に岩手内陸地震に襲われ、宮城県北部に位置する川渡フィールドセンターは道路などに大きな被害がでた。そして平成23年3月には東日本大震災。私は、その日、同じ複合生態フィールド教育研究センターに所属する女川フィールドセンターへ出張中であった。大津波警報が発令され、職場の教職員、学生とともに高台の避難場所へ逃げたが、津波はそこまで襲ってきた。さらに高い場所へ走って逃げ、どうにか命びろいをした。川渡では震災による建物への被害は大きくなかったものの、福島第一原発事故の放射性セシウム汚染で、フィールドセンターの農地が汚染被害を受けた。この間、センター長、副センター長として災害復旧、土壤汚染対策などの業務に関わるとともに、文科省の教育関係共同利用拠点に採択された川渡フィールドセンターの教育プログラムの整備やマネジメントなどの業務もあり多忙な十年であった。

これまでの勤務した研究機関と大学で担当した主な研究課題を、東北地方の水稲作況データの推移としてまとめたのが図1、2である。本稿では、私の研究人生の中で中心的な研究課題としてもっとも長く力を入れて取り組んで

(4) 菌根共生に魅せられて

きた「菌根共生」について、私自身の研究を振り返りながら、述べてみたい。

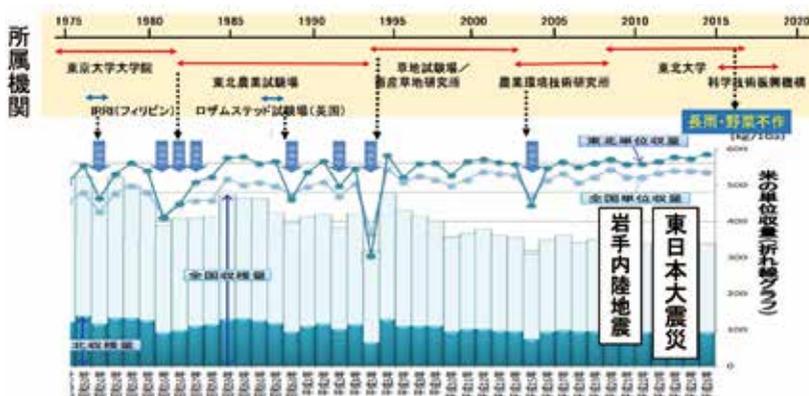


図1 これまで所属した研究機関と東北地域のコメの単位収量の年次変動

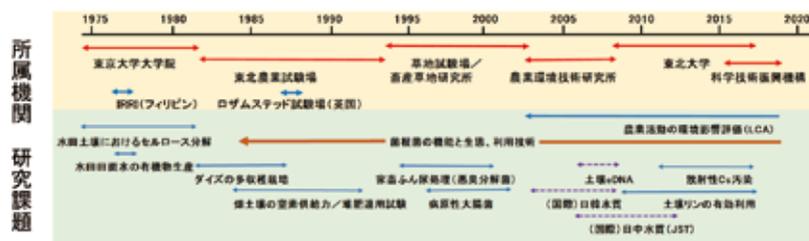


図2 これまでに担当した主な研究課題

2. 菌根共生とは何か

私の研究についてご紹介する前に、簡単に「菌根」について解説しておきたい。陸上の植物種の8～9割には、菌根菌と呼ばれる菌類が根に共生している。菌根菌は、植物の根の組織に侵入し、あるいは根組織表面に付着して、植物と菌の間で養分の授受を通した相利共生的な関係を営んでいる。菌根菌は土壌よりリンなどの養分を吸収し、それを植物へ供給し、植物は光合成産物である糖類などを菌根菌へ供給する。

菌根共生は、菌類の根組織への侵入の様式によって、菌糸が根組織表面に

付着し厚い菌糸層を形成する外生菌根、菌糸が根皮層組織へ侵入する内生菌根、その中間的なタイプなどに分けられる。外生菌根は主に樹木の根に形成され、菌根菌はキノコ（子実体）を形成することが多い。マツの根に共生するマツタケ菌が代表的な外生菌根菌である。一方、内生菌根菌の中で、もっとも普遍的な菌根菌がアーバスキュラー菌根菌であり、非常に広範囲の植物の種への共生が認められている。アーバスキュラー菌根菌が共生している根は、菌が共生していない根と、外見的には区別はつかない。根を適当な方法で染色後、顕微鏡で観察することによって、はじめてその存在を確認することができる（図3）。アーバスキュラー菌根菌は直径50~500 μ mの菌類としてはきわめて大型の胞子を土壤中へ形成する。菌糸に隔壁はほとんどなく、多核の菌糸を形成する。胞子から発芽した菌糸は、根表面に付着器を形成して根内部へ侵入する。菌糸は細胞間隙を伸長し、皮層細胞内に貫入し、細かく分岐した菌糸から成る樹枝状体（アーバスキュル）を形成する（アーバスキュラー菌根菌の名称は樹枝状体を形成することに由来する）。また、時に球状に肥大した袋状の器官・嚢状体（ベシクル）を根内に形成する。

かつては、VesicleとArbusculeの頭文字をとってVA菌根菌と呼ばれることが多かったが、アーバスキュラー菌根菌の一部には、ベシクルを形成し

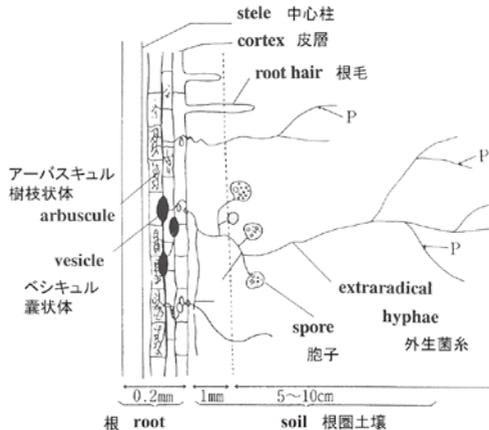


図3 根に共生するアーバスキュラー菌根菌（模式図）

(6) 菌根共生に魅せられて

ない種が存在することから、より普遍的な樹枝状体（アーバスキュル）を形成する菌根菌「アーバスキュラー菌根菌」という呼称が使われている。ただ、わが国では、すでに「VA 菌根菌資材」という名称で本菌を含む資材が市販されており、VA 菌根菌という名称も広く用いられている。アーバスキュラー菌根菌を、頭文字で略すと A 菌根菌となるが、分かりにくいので菌根（ミコリザ）の頭文字 M と合わせて、AM 菌とも呼ばれる。ただ、類似する名称をもつ非科学的な微生物資材と間違われることが心配で、一般の方々への講演などでは、私はアーバスキュラー菌根菌と呼ぶようにしている。

3. アーバスキュラー菌根菌との出会いからカルチャーコレクションへ

アーバスキュラー菌根菌が宿主である植物へ及ぼす効果として、i) リン吸収の促進、ii) リン以外の養分（亜鉛等）の吸収促進、iii) 水分（乾燥）ストレス抵抗性向上、iv) 病害抵抗性向上、v) 過剰養分（マンガン等）の吸収抑制、などが知られている。このことから、この菌を作物へ接種し、リン吸収の促進などの有用な機能を作物生産へ活用しようという試みが、1970年代から欧米を中心に、進められてきた。わが国においても、1980年代から実用化研究がすすめられてきた。

このアーバスキュラー菌根菌が日本の土壤微生物研究者に広く認知されるようになったのは、小川眞博士が、炭によってアーバスキュラー菌根菌の植物生育促進効果が高まる、ことを発表した1980年代になってからである（小川 1987）。微生物資材としてのアーバスキュラー菌根菌の利用技術に関心が高まりつつあった。当時は、菌根菌に関心を示す国内企業も多く、その後、「VA 菌根菌資材」の市販が開始された。その後、「VA 菌根菌資材」はリン肥料等の節減につながることから、1996年に地力増進法に定める政令指定土壤改良資材の一つとしても認められた。

1983年秋、東北農業試験場の駆け出しの研究員であった私は、草地試験場（当時）におられた西尾道徳博士に誘われてつくばの林業試験場（現在、森林総合研究所）の小川眞博士の研究室を訪問し、アーバスキュラー菌根菌の

取り扱いの手ほどきを受けた。その時、アーバスキュラー菌根菌（当時はVA菌根菌と呼んでいた）の胞子を初めて見た。実体顕微鏡下で見るアーバスキュラー菌胞子の美しさと、根の中に感染しているアーバスキュラー菌根菌の菌糸が細胞内に充満する樹枝状体（アーバスキュル）の形状は驚異的であった。この時以来、アーバスキュラー菌根菌、特に *Gigaspora margarita*（この学名の示す通り大型で真珠のような胞子）の白い輝きと、人の心にかみつくような樹枝状体の虜になってしまった（図4）。

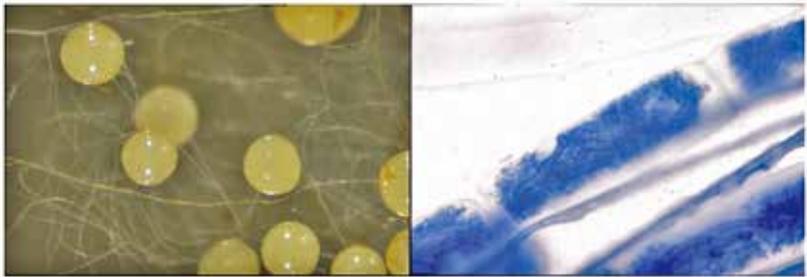


図4 アーバスキュラー菌根菌 *Gigaspora margarita* の胞子とダイズ根内の樹枝状体（アーバスキュル）

その頃からアーバスキュラー菌根菌の研究を開始し（Saito 1990）、1987-88年の英国留学を経て、研究テーマの中心を菌根菌に置いた。87年～88年に、英国ロザムステッド試験場では Hepper 博士の下でアーバスキュラー菌根菌の生理的研究の手ほどきをうけた（Saito et al. 1993. Saito and Kato 1994）。帰国後、手探りの状態で農耕地から分離したアーバスキュラー菌根菌の同定を行い、土壤微生物学会（当時は、土壤微生物研究会）の会誌に発表した（Saito and Vargas 1991）。その論文の別刷りを海外の菌根菌研究者何人かに送ったところ、英国の Walker 博士から貴重なコメントを含む返信をいただくことができた。それが縁で、Walker 博士を日本へ招へいし、アーバスキュラー菌根菌分類同定に必要なさまざまな手法を教えていただいた（Murakoshi et al. 1998）。

微生物研究の基盤はさまざまな種類の菌株を収集保存することが重要と考

(8) 菌根共生に魅せられて

え、日本国内から分離したアーバスキュラー菌根菌のコレクションづくりに取り組むことにした。国際的には、すでに米国の INVAM (International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi)、欧州の BEG (Banque Européenne de Glomales) などアーバスキュラー菌根菌に特化した大規模なカルチャーコレクションがあった。

ここで問題となるのは絶対共生のアーバスキュラー菌根菌、分離しても長期保存はできないことである。アーバスキュラー菌根菌の増殖のためには、植物根に菌を接種して共生を成立させ、植物を栽培することが必要である。菌の保存のためには、栽培土壌中に増殖した胞子を分離し、植物根へ植え継ぐという植物栽培を伴う継代培養作業が必要になる。微生物の菌株を保存する施設は、農水省傘下の研究所では、筑波の農業生物資源研究所（現在、農研機構・遺伝資源センター）に微生物ジーンバンクがある。しかし、凍結による長期の保存できないアーバスキュラー菌根菌を同研究所で保存することは難しく、当初はジーンバンクに受け入れてもらえなかった。その後、草地試験場でご一緒した加藤邦彦博士が生物研の微生物ジーンバンク担当部長に異動され、加藤博士のご尽力によって、草地試験場の土壌微生物研究室をサブバンクとして、菌株を1～2年に一度、ポット栽培で植え継ぎすることで維持管理を行い、ジーンバンクへ菌株名の登録を行う形で菌株保存できることになった。私の異動後は、後任の小島知子博士がさらに分離菌株を増やした。国際的にみれば保存菌株数はきわめて少ないが、ジーンバンクの公式の菌株番号である MAFF 番号を付した菌株の保存を継続している (<https://www.gene.affrc.go.jp/about-micro.php>)。これらの菌株は国内外の研究者の研究材料として活用されており、現在は農研機構・中央農業研究センターの大友量博士によって維持管理されている。しかし、関連予算の削減や研究者異動などによって、このコレクションがいつまで維持されるのか不安である。この研究の過程で、草地研究所の飼料畑から分離したアーバスキュラー菌根菌の一種を、単胞子分離（胞子1個を植物根に接種し、その植物個体をポット栽培して単胞子由来の菌の増殖を図る）によって純化したところ、この菌

は2種類の形態の異なる胞子を形成した。それらは、これまで *Glomus* 属、*Acaulospora* 属という異なる属の種として記載されてきていた異名同種であった(図5)。これは新発見だと喜んでいたら、米国の Morton らが先に論文を発表した。新種としての記載は彼らのグループに遅れをとってしまった。

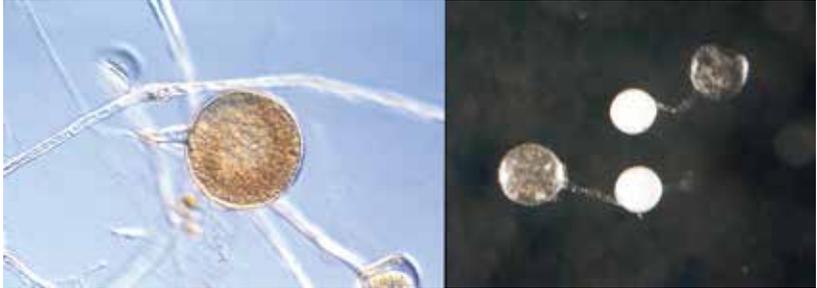


図5 2種類の異なる形態の胞子を形成する菌
Ambispora leptoticha. (左) *Glomus* 型、(右) *Acaulospora* 型

その頃、形態的に基づく古典的な分類同定は大きく変わろうとしていた。遺伝子の DNA 塩基配列に基づく微生物の分類法が開発され、1990年代ごろから菌類の分類にも応用されるようになった。そこで、博士研究員の澤木氏に、この菌の rDNA 遺伝子に基づく分子系統を調べてもらった。すると、本種は当時知られていた6つの属から成るアーバスキュラー菌根菌とは異なる新規な系統であった (Sawaki et al., 1998)。この発見は、その後のアーバスキュラー菌根菌の分類体系の全面的な見直しにつながった。なお現在では、この菌を含む類縁の菌群は、*Ambispora* 属という新属に整理されている (Walker et al. 2007)。

私がアーバスキュラー菌根菌の分離収集を始めた1990年の初めには、アーバスキュラー菌根菌は接合菌類に位置づけられ、1目3科6属約100種程度に分類されていた。その後の研究の進展に伴い、菌類の中でもきわめて独自の系統であることが明かにされ、2001年には門レベルで独立した菌類グループ・グロムス菌門が提案された。その後、比較ゲノムによる研究の進展により、2016年にケカビ門の中のグロムス菌亜門として位置づけられている。し

かし、グロムス菌門として残すべきとの意見もある。グロムス菌亜門には、現在では4目12科20以上の属と300種以上が記載されている。しかしながら、記載されている種の情報は不十分なものが多く、膨大なDNA情報とはうらはらに、カルチャーコレクションに維持されている菌株はそのうちのごく一部である。いずれにしろ、グロムス菌亜門に属する菌は、ほぼすべての種がアーバスキュラー菌根を形成する。このことは菌類の進化の初期の段階、すなわち植物が陸上へ進出した4億2千万年前に植物とアーバスキュラー菌根共生の道を進み、その後、植物と共生しつつ、この系統を維持してきたことを示唆している。

なお、最近、グロムス菌亜門と近縁のクサレケカビ亜門の菌類がアーバスキュラー菌根を形成することが発見された (Orchard et al. 2017)。この菌が形成するアーバスキュラー菌根と形態的に類似する化石も発見され、この菌の菌根共生への進化が注目されている。

4. 植物と菌の物質交換：炭素とリン酸

アーバスキュラー菌根菌の分離収集を進めながら、私はアーバスキュラー菌根菌と植物の間の養分の授受に関する研究に比重を置くようになった。アーバスキュラー菌根菌は土壌から吸収したリンを植物へ供給し、また宿主である植物から炭素源として光合成産物を得ている。リンは通常はリン酸の形態で存在し、土壌の粘土鉱物などに吸着され、窒素やカリウムに比べて土壌中での移動速度がきわめて遅い。そのため、植物はリン酸を吸収するためにリン酸の存在する部位まで根を伸長させなければならない。アーバスキュラー菌根菌が共生している植物の根では、アーバスキュラー菌根菌の菌糸が土壌中へ広く伸長し、植物根がたどりつけない部位のリン酸を吸収し、菌糸を通して植物体内の菌糸へと運び、樹枝状体で植物側へ供給するのである。そのため、アーバスキュラー菌根菌が共生している植物の方が、土壌中のリン酸を効率良く吸収でき、生育も改善されるのである。一方、植物の葉で光合成された炭素化合物は地下部へ移行し、根内のアーバスキュラー菌根菌へ

供給される。植物とアーバスキュラー菌根菌は、炭素とリンの養分交換を通して相互共栄しているのである (図6)。

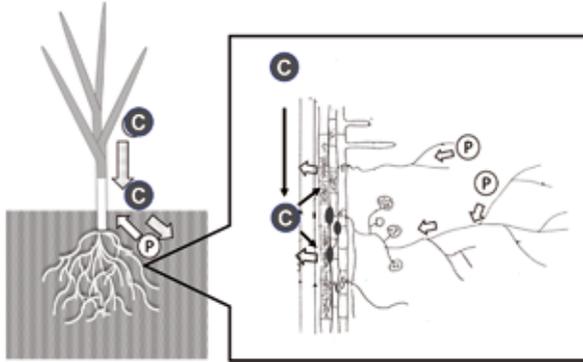


図6 アーバスキュラー菌根共生系における炭素とリンの動き (模式図)

さて、私が本格的にアーバスキュラー菌根菌の研究に取り組み始めた1990年初めの頃、アーバスキュラー菌根菌と植物間の物質交換の生理生化学的メカニズムについての情報は、きわめて限られていた。このメカニズムを明らかにすることができれば、アーバスキュラー菌根菌から植物へのリンの移行量、つまりアーバスキュラー菌根菌による植物のリン吸収促進作用について、生化学的に評価ができるのではないかと考えたのである。

植物根内の菌糸 (内生菌糸) は、樹枝状体というきわめて複雑な形態で植物根組織内に貫入しており、そこが菌と植物の養分授受の主な場であると考えられてきた。そこで、アーバスキュラー菌根菌と植物細胞の間の養分授受現象を明らかにすべく、菌糸の生理的機能を維持したまま、根組織から内生菌糸を分離することを試みた。分離した内生菌糸の代謝を試験管の中で調べれば、菌根菌が植物の中で行っている代謝過程を明らかにできるのではないかと考えた。このアイデアは、マメ科作物の根粒の中の植物細胞の中に共生している根粒菌を分離している研究に触発されたものである。

アーバスキュラー菌根菌の共生によって生育促進効果が明確に現われ、比

(12) 菌根共生に魅せられて

較的根が太く、取り扱いやすいタマネギを材料にし、植物の細胞壁を酵素で溶かして植物細胞をプロトプラスト化する研究例などを参考にして、細胞壁の主成分であるセルロースを分解するセルラーゼと細胞間を結合しているペクチンを分解するペクチナーゼで根を処理し、低速のブレンダー処理とパーコールによる密度勾配遠心法を組み合わせることによって、根の中に共生しているアーバスキュラー菌根菌菌糸を分離することができるようになった (Saito, 1995)。

内生菌糸の種々の酵素活性を、孢子から発芽したばかりの単生状態の菌糸と比べると、共生することによって代謝パターンが著しく変化していることが明らかになった。特に、アルカリホスファターゼ活性が特異的に高く、樹枝状体で強く発現していた (図7)。本酵素の遺伝子は後に博士研究員であった青野博士が単離に成功し、リンの物質交換において重要な役割を果たしているのではないかと推定した (Aono et al. 2004, Funamoto et al. 2006)。しかし、このアルカリホスファターゼはアーバスキュラー菌根菌体内の主要リン酸貯蔵物質であるポリリン酸への基質特異性は低く、その役割についてはいまだに不明のままである。



図7 酵素消化法によってタマネギ根より分離したアーバスキュラー菌根菌菌糸のアルカリホスファターゼ活性染色。樹枝状体は強い活性 (黒色) を示すが、嚢状体や内生菌糸は活性を示さない。(Saito 1995)

次に、植物根内でアーバスキュラー菌根菌が植物からの光合成産物を吸収利用する過程を試験管内で再現するために、分離した内生菌糸に放射性同位元素 ^{14}C で標識した糖類を加え、呼吸によって発生する $^{14}\text{CO}_2$ によってどのような糖類が代謝されているかを、農工大の平田先生の下で博士号を取得した後、特別研究員として当研究室へやってきた Solaiman 博士と一緒に調べることにした。その結果、根に共生しているアーバスキュラー菌根菌が、主にグルコースとして植物から炭素化合物をエネルギー源として獲得していることが分かった (Solaiman and Saito, 1997, Solaiman et al. 1999, Solaiman and Saito 2001)。同じ頃、米国では *in vitro* NMR を使って炭素とリン酸の代謝を非破壊的に調べていた (Bago et al. 2000)。彼らも、私たちと同じように植物から菌へグルコースの形で供給され、それを菌が利用していることを見出した。これらの研究の後、植物からのアーバスキュラー菌根菌へは単糖として炭素の供給が行われると考えられてきたが、最近、新たな発見が続き、このスキームは修正せざるを得なくなった。

アーバスキュラー菌根菌は菌体内、特に胞子に多量の脂質を貯蔵しているが、アーバスキュラー菌根菌のゲノム解読が進むにつれ、アセチル Co-A から脂肪酸を合成する経路の遺伝子が欠損していることが示唆されていた (Tisserant et al. 2013)。その後、基礎生物学研究所のグループによる高精度解読により、確かに細胞質の脂肪酸合成系がすっかり欠損していることが確かめられた (Maeda et al. 2018, Kobayashi et al. 2018)。また、種々の菌根形成に異常を生じる各種の植物変異体の研究から、アーバスキュラー菌根菌の増殖は植物から脂質の供給によって支配されていることが明らかになってきた (2017年、Science 誌に中国と英国のグループがそれぞれ同時に発表)。これまでアーバスキュラー菌根菌は、その炭素源をグルコースなどの単糖の形で受け取っていると考えられてきたが、糖だけではなく、脂質も植物から供給されているのである。アーバスキュラー菌根菌体内には多量の脂質が蓄積されているので、かなりの炭素源を脂質として得ていると考えられる。アーバスキュラー菌根菌が、脂質と単糖それぞれにどのくらい依存し

ているのかは、まだ分かっていない。ある研究者は、糖と脂質をパンとバターにたとえて、「アーバスキュラー菌根菌はパンのみで生きるにあらず、たっぷりバターを塗ったパンで生きる」と述べている。最近のアーバスキュラー菌根菌共生に関わる進歩は著しく、次々と新しい発見が報告されている。

アーバスキュラー菌根菌の根の内部でのアーバスキュラー菌根菌と植物の関係について述べてきたが、アーバスキュラー菌根菌は根から土壤中への菌糸を伸ばして、土壤からリン酸を吸収し、植物へ供給している。根の外に伸びる菌糸（外生菌糸と呼ぶ）はどのように土壤からリン酸を吸収し、根までどのようにそのリン酸を運搬するのだろうか。アーバスキュラー菌根菌の外生菌糸が土壤からリン酸を吸収する役割を果たすリン酸トランスポーターの遺伝子単離の成功は、Harrisonらによる成果であった（1995年）。世界中の研究者が植物のリン酸トランスポーター遺伝子単離に競争している時に、きわめてマイナーな菌類であるアーバスキュラー菌根菌で同遺伝子が単離され、Nature に発表されたことは関連の研究者に大きなインパクトがあった。土壤肥料学会大会の講演で、ある研究者が先を越されたことを悔しそうに紹介していたことを覚えている。

土壤から外生菌糸のリン酸トランスポーターによって吸収されたリン酸は、アーバスキュラー菌根菌の菌糸の中でポリリン酸の形態で液胞へ蓄えられ、活発な原形質流動によって植物根内の内生菌糸へと運搬されると考えられていた。ポリリン酸は、無機リン酸が重合した高分子で、リン酸のみを貯蔵・運搬する意味では効率のよい物質である。当時、大型の競争的研究資金を獲得することができたのでレーザー共焦点顕微鏡を新たに導入した。博士研究員として来ていただいた久我ゆかり博士は卓越した顕微鏡技術を有しており、菌糸中の液胞を蛍光プローブによって観察していた。アーバスキュラー菌根菌の液胞は、これまでの生物顕微鏡での生体観察ではゴム風船のような袋型の構造だと考えていたが、実は発達した束状の管状構造をしてお

り、それらの液胞が束になって動くことが初めて観察された (Uetake et al. 2002) (図8)。このような構造は、他の菌類には見いだされないアーバスキュラー菌根菌独自のもので、この構造がアーバスキュラー菌根菌糸を通じた活発な物質輸送に貢献しているものと考えられる。

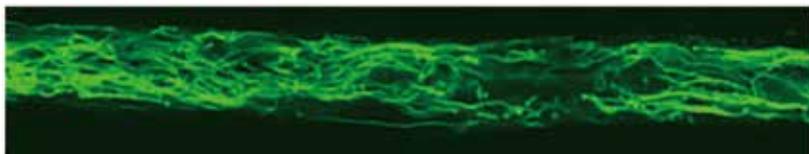


図8 *Gigaspora margarita* の発芽菌糸の管状液胞。液胞部分が蛍光で明るく見える。菌糸の太さは約5 μ m (Uetake et al. 2002)。

当時私たちの研究室に所属していた大友博士が、米国のアーサー・コーンバーク博士 (DNA ポリメラーゼの研究でノーベル賞受賞) の下へ留学し、コーンバーク研究室で習得してきたポリリン酸に関わる様々な研究手法を駆使して研究を展開し始めた (Ohtomo and Saito 2005, Ohtomo et al. 2008, Takanishi et al. 2009)。共同研究者であった北大の江沢辰広博士や博士研究員であった齋藤勝春博士 (現在、信州大学) らが、さらにアーバスキュラー菌根菌のポリリン酸の動態や役割などについての研究を展開し (Saito et al. 2005, Kuga et al. 2008)、現在、アーバスキュラー菌根菌の視点からのリン酸代謝に関する研究で世界をリードしてきている (Ezawa and Saito 2018)。

5. アーバスキュラー菌根菌の農業利用：フィールドでの接種効果

リン肥沃度の低い土壌においては、アーバスキュラー菌根菌が植物生育に顕著な効果を示すことから、多くの国々でアーバスキュラー菌根菌接種資材が生産・市販されている。また、これらの資材の効果に関する研究報告も膨大な量に上る。わが国においては、1996年にアーバスキュラー菌根菌資材が地力増進法に定めるところの政令指定土壌改良資材として認定され、接種資材の販売が進められた。しかし、2001年頃をピークに供給量は減少の一途をたどっており、農業用資材として普及しているとは言い難い状況にある。こ

これは、アーバスキュラー菌根菌資材のターゲットとなる高収益性の野菜等の栽培圃場においては、連年のリン肥料施用により土壤のリン肥沃度が高くなっており、資材の効果が現れにくいことがもっとも大きな要因であろう。作物にとってアーバスキュラー菌根菌の助けを借りる必要が無く、また、このような高リン条件ではアーバスキュラー菌根菌の共生が阻害されることがあるからである。また、一般の畑圃場には土着の菌根菌が生息しており、接種菌とそれら土着の菌との競合があって、期待通りに接種菌が効果を発揮できないという問題がある。アーバスキュラー菌根菌が絶対共生であり、製造にコストがかかり、資材の価格が高いことも普及を妨げる一因である。

アーバスキュラー菌根菌資材を接種して作物を栽培する場合、資材の効果は、土壤のリン肥沃度と土着のアーバスキュラー菌根菌との関係で理解できる。このことを模式的に図9に示した (Saito and Marumoto 2002)。土壤中の可給態リン水準がそれほど高くない一般畑地・飼料畑などにおいては、もし土着アーバスキュラー菌根菌の密度が低い場合は接種効果が期待できる。しかし、大面積の畑作・飼料作に高価な接種資材を利用するのは現実的ではない。非菌根性作物と菌根性作物が後作に及ぼす効果に関する唐澤 (2004)の研究から、土壤に元来生息する土着アーバスキュラー菌根菌を、作付け体系を工夫することによって活用する方法が有効であろう。

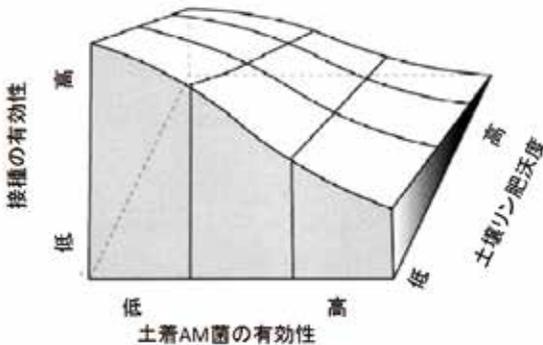


図9 アーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) 資材の接種有効性と土壤リン肥沃度、土着菌根菌との関係 (模式図)

菌根菌資材の価格の面から考えると、接種資材として利用が期待できるのは収益性が高く、かつ集約的な栽培の野菜・園芸作物である。山形大学の俵谷教授は、多量のリン施肥を要求する長ネギに着目し、育苗段階で接種を行い十分にアーバスキュラー菌根菌の共生した苗を圃場へ定植することによって可給態リン水準の高い圃場においても接種効果を得ることに成功し、高騰するリン肥料の節減につながることを示していた (Tawaraya et al. 2012)。

農業環境技術研究所から大学へ異動した私は、同様の方法で長ネギに対する接種資材の効果を、東北大学の川渡フィールドセンターの畑圃場（非アロフェン質黒ボク土）で数年間にわたって検討した。圃場のリン肥沃度にかかわらず、アーバスキュラー菌根菌の育苗時接種により、長ネギの定植直後の初期生育を促進できることを示すことができた。収量への接種効果をリン酸肥沃度との関連でみてみると、川渡の土壤では可給態リン酸が約10mg/100g 乾土前後で接種効果が高かった (鈴木ら 2015, Suzuki et al. 2017) (図10)。一方、高リン区のアーバスキュラー菌根菌非接種区においてもアーバスキュラー菌根菌の感染が観察され、高リン条件においても作物へ共生できる種の存在が示唆された。実際、この圃場から分離した菌株 (*Claroideoglomus etunicatum*) は可給態リン酸が高い条件でもネギの幼植物へよく共生して生

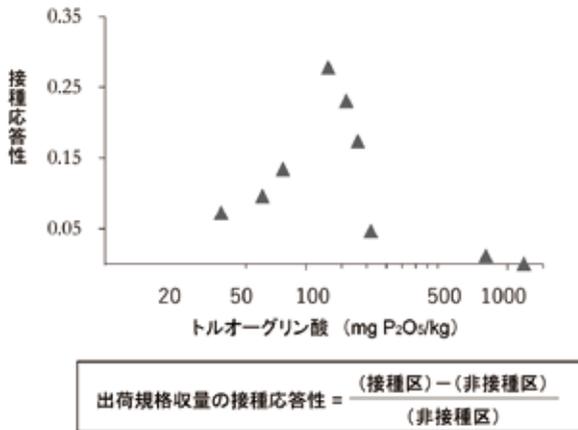


図10 ネギに対する接種効果と土壤可給態リン酸水準の関係 (川渡フィールドセンター)

育促進効果も大きかった（鈴木ら 2015）。

2014年に、菌根菌の基礎的研究成果の社会実装を目指した JST（科学技術振興機構）の大型プロジェクト（ACCEL）が川口正代司教授（基礎生物学研究所）を代表として、開始されることになり、私がプログラムマネージャーを務めることになった。このプロジェクトは、菌根菌の培養技術のブレークスルーを目指す課題と、フィールドでの試験に基づいて菌根菌利用診断技術の開発を目指す課題から構成されている。私はプロジェクト全体をコーディネートするとともにフィールドでのネギへの接種試験の一部を担当した。

菌根菌資材の接種効果は、先に述べたように土壌のリン酸水準などの土壌理化学性のみならず、天候や農地管理の影響に加え、土着の菌根菌との競合など様々な要因に影響される。そこで、こうした複雑な環境の下での接種菌の定着促進 / 阻害に関わる要因を網羅的に評価するために、全国各地の試験研究機関や大学で共通の設計で接種試験を行い、それに基づく菌根菌利用診断技術の開発を目指すこととした。供試作物としてトウモロコシ、ダイズ、ネギを選び、接種資材としては出光興産社製の資材を用いることにした。接種菌と土着の菌根菌の動態を解析するために、作物根中の菌根菌相を次世代シーケンサーのデータに基づいて網羅的に解析するシステムを、かずさ DNA 研究所が中核となって構築し、フィールドでの菌根菌相解析をこのシステムを利用して進めた。かずさ DNA 研究所の平川博士らが構築したシステムは、菌根菌のみならず他の菌類、また細菌叢の解析も可能なシステムであり、かずさ DNA 研究所のサーバーに設置されており、一般に公開されている (<http://amfungi.kazusa.or.jp>)。

接種効果はトウモロコシとダイズでは判然としなかった。そのため、これらの作物の圃場での接種試験は2年で中絶せざるを得なかった。その中で、2015年に都城の九州沖縄農業研究センター圃場で行われたダイズの試験では、接種効果は接種菌の定着に大きく影響されており、接種菌の定着には作付け履歴が最も重要な要因の1つであることが明らかになった。すなわち、土着菌根菌密度の低い圃場では接種菌が定着し、接種の効果が得られたが、

菌根性作物が前作に作付けられていると土着菌根菌密度が増加し、それらと接種菌の競合によって接種菌の定着が抑制され、接種効果が現れなかった (Niwa et al., 2018)。

一方、ネギでは顕著な接種効果の得られる事例が多かった。その一因は、育苗段階での接種により接種菌を十分に定着させた苗がフィールドに定植され、土着菌との競合に対して有利であったことが考えられる。また、ネギはダイズやトウモロコシに比べ、根系が疎であり、菌根菌の共生の効果が現れやすかったことも一因であろう。ネギの接種効果も接種菌の定着がよい場合に高かった (鈴木ら 2018)。そのことから、プロジェクトメンバーの丹羽理恵子博士らは、栽培履歴や土壌理化学性の情報から接種菌の定着を予測し、それに基づき収量への接種効果の程度を推定するというモデルを構築した。機械学習法によりネギへの菌根菌資材接種の有効性を予測する手法を開発した (丹羽ら 2018)。かなり実用レベルに近い成果なので、何とか研究費を獲得してさらに現地圃場試験を積み重ねていただきたい。

6. 荒廃土壌における植生回復とアーバスキュラー菌根菌の動態： ピナツボ火山泥流地帯と雲仙普賢岳火砕流跡地での調査

地球温暖化などの気候変動や不適切な土壌管理によって塩類集積・砂漠化・表土流出などの土壌の劣化が急速に進行している。さらに、火山の爆発・暴風雨などの自然災害によっても、土壌劣化引き起こされ、深刻な問題となっている。一度、植生を失った土壌の回復は大変困難であり、荒廃した土壌の修復のためにさまざまな技術開発が進められてきている。私が草地試験場に勤務していた1999年に「共生微生物の機能を利用した荒廃土壌の修復技術」の開発を目指してプロジェクトを開始した。このプロジェクトは、私を代表として大森正之教授 (当時、東大)、南澤究教授 (東北大)、丸本卓哉教授 (当時、山口大) との共同研究で、私は菌根菌の利用による植生回復を目指して、アーバスキュラー菌根菌の生理生態研究とともにフィリピン・ピナツボ火山泥流地帯のアーバスキュラー菌根菌の生態を調査した。荒廃土壌

修復のための新たな技術開発の鍵は、自然界においてきわめて緩慢に進行している荒廃土壌の植生回復プロセスにあると思われる。すなわち、植生回復プロセスに内在する生物的・環境的原理を抽出し、それを利用することで荒廃した土壌の植生回復を加速化できるのではないかと考えたのである。

1991年、フィリピンのピナツボ火山が大爆発を起こした。山腹に堆積した膨大な火山噴出物は、雨期の度、下流へ泥流（ラハール）となって流れ出し、広大な地域を火山灰・火山砂で埋め尽くした。泥流地帯における火山性噴出物の堆積は場所によっては数10mに及び、乾期になると砂漠のような状態であった。こうした新生の火山性堆積物での植生回復過程は、一面では陸上生態系の進化の再現と見ることもできる。私が初めてラハール地帯を訪れたのは1997年。JICAの短期専門家としてフィリピンに滞在している折、長期専門家として精力的に活躍中であった故・大倉利明博士に案内していただいた。ラハール地帯のパイオニア植物である野生植物の様子を見て、植生回復と菌根菌の関係を調べてみたいと思うようになった。その後、1999年にはフィリピン大学ディレマン校のBarraquio教授の研究室に滞在して現地での研究を進めた。Barraquio教授は、私が学生時代にIRRIの渡辺巖先生の下に留学した時に同研究室の研究助手をしていて親しくさせていただいた。残念ながら2006年に急逝された。

ラハール地帯の現地での調査や接種試験などから、ラハール地帯に最初に定着するのはイネ科のワセオバナ（サトウキビの原種とされているススキに類縁の植物）であり、この植物は、アーバスキュラー菌根菌と共生してもその生育は改善されず、菌根菌との共生を必ずしも必要としないのではないかと考えられた。しかし、この植物は、菌根菌の増殖にとっては良い宿主であるようで、根圏土壌に多数のアーバスキュラー菌根菌胞子を形成した。現地では、ワセオバナが定着した後に、マメ科の野草が侵入し、植生全体の生育が旺盛になり、植生は急速に回復することが観察されている。後から侵入してくるマメ科野草は、その生育を菌根菌に依存しており、パイオニアのワセオバナが菌根菌の胞子密度を高めることによって初めて定着し得るようで

あった (Oba et al. 2004, Saito 2010, Saito et al. 2011)。

ラハール地帯の母材となる火山噴出物は可溶性のリン酸を含んでいるが、窒素や炭素をほとんど含んでいないので、植物生育の制限因子は窒素である。植物や土壌の窒素自然存在比の分析値から次のような植生回復過程が示唆された。すなわち、ワセオバナというイネ科野草が大気からの沈着する窒素などの微量の窒素を利用してほそほそと生育しながら、アーバスキュラー菌根菌という土壤微生物を養い、その菌根菌がマメ科野草の定着を助ける。マメ科植物は窒素固定のためにリンを必要としており、菌根菌に対する依存度が高いのである。さらに、マメ科野草の根粒窒素固定作用によって、イネ科のワセオバナの生育がさらに良好となり、より多数の種子を生産し、周辺へ種子を散布する。植物—微生物を通じた相乗的な関係の中で菌根菌は植生回復のファシリテーターとしての役割を果たしている (図11) (齋藤 2004)。

土壌修復や植生回復のために有効な微生物が見出され、それを現場で利用しようとする場合には、微生物を何らかの形で資材化し、現地へ施用し、そ

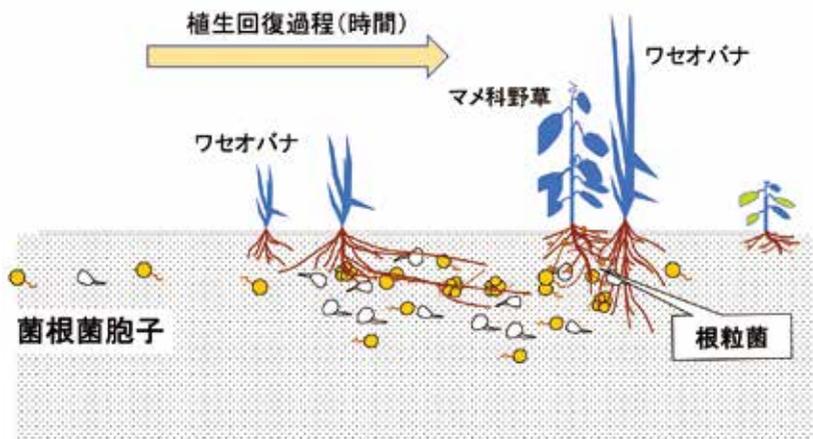


図11 ピナツボ火山泥流地帯における植生回復における菌根菌の役割。パイオニア植物であるワセオバナ (イネ科) は菌根菌胞子を増やす。菌根菌が増えると、菌根菌依存度の高いマメ科野草が侵入し、根粒素固定により窒素を富化し、植生回復が進む。菌根菌が存在しない土壌ではマメ科野草は定着できない。

の効果を実証するという研究が必要になる。雲仙普賢岳は1990年以来数年間にわたる何度かの大規模な火砕流によって1,000ha以上が埋め尽くされた。火山活動が静まった後、さまざまな工法によって、荒廃地の緑化修復が進められていた。山口大学の丸本教授のグループでは、ポリエステル樹脂で作製したバッグに緑化資材（植物種子、肥料成分、菌根菌等）を充填し、ヘリコプターによって散布するという航空緑化工法を試みていた（丸本・河野2001）。この資材中にはアーバスキュラー菌根菌が含まれており、この菌根菌の効果を調べるために、施工後4年後に施工地点を調査した所、隣接する未施工区に比べ、施行区において明らかに植生の回復が進んでいた。資材中に含まれる *Gigaspora margarita* は、セントラル硝子(株)が分離し、同社が微生物資材として製造しているものであった。まず、この菌根菌を検出するための菌株特異的分子マーカーの開発を試みた。アーバスキュラー菌根菌は多核で rDNA や ITS の配列に多型が見いだされることから、ITS 配列等の他の菌類で用いられているマーカーがなかなか使えなかった。そのため、M13プライマー等で増幅した断片の中からようやく接種菌株特異的な配列を見つけ出すことができた。この配列によるプローブによって調べたところ、施工区にのみ接種菌が残存しており、接種菌が何らかの形で植生回復に寄与したものと推察された。この課題には、山口大学の横山和平准教授（当時）に尽力していただいた（Yokoyama et al. 2002, 2005, 横山ら 2002）。

このことは、火山等による影響で植生の失われた環境の修復に、菌根菌等の微生物を含んだ資材の施工が有効であることを示すものである。広大な面積を有する荒廃劣化している土壤に、膨大な量の接種資材を投入することは現実的ではない。そこで、上記で論議した植生遷移を考慮すれば、次のような技術が考えられる。すなわち、現地のもとの植生遷移の初期に侵入すると予想される植物種の中からアーバスキュラー菌根菌胞子生産能の高い種を選抜し、種子に菌を接種したペレット等をマメ科植物等2次的な種と混合して散布することによって、植生回復の拠点形成すれば、それらからパッチ状の緑化を進めることができると考えられる。

7. 最後に

大学院時代を含めれば40年以上も研究に携わってきたことになる。振り返ってみると、私のスタイルは、一人でコツコツと研究するというよりは、大風呂敷を広げた研究テーマの下にプロジェクトを立ち上げて、その推進をコーディネートすることに注力することなのかも知れない。

農業環境技術研究所に在任中には、研究管理業務ということで、農水省やJST 関連の多くのプロジェクトの立ち上げやコーディネート業務を担当した。「農業分野におけるライフサイクルアセスメント (LCA) 手法の開発」という今まで全く勉強したことのないテーマのプロジェクトを途中から引き継ぎ、とりまとめまで行ったことは大変だったが、視野を広げるのに大変役立った。その時に培ったネットワークを活かして、農業に関わる LCA について勉強を続けていたら、論文も書いていないのに日本 LCA 学会から功績賞をいただくことができた。

「土壌微生物相の解明による土壌生物性の解析技術の開発」(略称「eDNA」プロジェクト)を立ち上げ、全国規模で土壌 eDNA の基礎的情報を土壌の種類、管理、作物生産性等の関連でデータベース化すること等を目指した。私はプロジェクト途中で大学へ異動したが、後任の對馬誠也博士(現、東京農大)が次世代土壌病害診断システム HeSoDiM という形で成果を結実させることになった。なお、当時はまだ次世代シーケンサーをルーチンで使える時代ではなかったので、共通の eDNA 解析手法として DGGE を採用したが、その時抽出した DNA は凍結保存されており、当時の土壌理化学性・栽培データ等のメタデータも残っている。新たな分析手法でこれらのデータに光をあててくれる研究者はいないだろうか。

農環研では水質関係の研究チームの担当でもあったので、農環研や大学の研究者を組織して、JST の日中共同研究プログラム「日本と中国の農業生態系流域における窒素循環およびその水質に及ぼす影響に関する比較研究」の研究代表を務めた。研究代表とは言っても、仕事は交流事業のコーディネー

トであった。この課題は途中延長もあって6年間続けることができ、南京・土壤研究所のメンバーとのネットワーク構築に少しは貢献することができた。このプログラムをきっかけに、川渡フィールドセンターで水質関係の研究を始めようと思ったが果たせなかった。努力不足であった。

2014年末から開始したJSTのACCELプログラムによる菌根菌プロジェクトではプログラスマネージャーという今まで経験したことのない役職でプロジェクトのコーディネイトに努めた。農学や生物学に関わりをもたない工学系の先生方がほとんどの研究開発運営委員会で、多様な環境の下で圃場試験を行う意義を説明するのは大変困難であったが、研究代表の川口先生をはじめ多くのプロジェクト関連の共同研究者のお陰ですばらしい成果を挙げることができたと思っている。フィールドでの試験研究の成果の一部についてはすでに述べたが、菌根菌の培養技術関連の課題では、(1) 菌根菌 *Rhizophagus irregularis* および国内で分離した *R. clarus* のゲノムを世界最高水準の高精度で解読 (Maeda et al. 2018, Kobayashi et al. 2018)、(2) 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 (非共生状態の純粋培養の成功) (Kameoka et al. 2019)、等の成果が上がっている。プロジェクトは終了したが、アーバスキュラー菌根菌の単独人工培養技術への展開に期待したい。

これまで述べてきた研究は、多くの共同研究者、学生、研究支援者の熱心なご協力によるものである。心より感謝申し上げる。また、本稿の執筆の機会をいただきました肥料科学研究所・尾和理事長に心よりお礼を申し上げます。

参考文献

- 東北地域土壌窒素無機化パターン研究グループ. 1988. 東北地域における土壌窒素無機化パターンのモデル化とその利用技術の現状. 農業技術, 43, 161-164, 208-213.
- 小川 眞. 1987. 共生微生物・菌根菌の利用と新資材の開発. 日本土壌肥科学雑誌

58, 500-504.

- Saito M. 1990. Charcoal as a micro-habitat for VA mycorrhizal fungi, and its practical implication. *Agric. Ecosystems Environ.*, 29, 341-344.
- Saito M., Stribley DP., Hepper CM. 1993. Succinate dehydrogenase activity of external and internal hyphae of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdmann and Trappe during mycorrhizal colonization of roots of leek (*Allium porrum* L.), as revealed by in situ histochemical staining. *Mycorrhiza*, 4, 59-62.
- Saito M., Kato T. 1994. Effects of low temperature and shading on relationships between nodulation, vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and shoot growth of soybean. *Biol. Fertil. Soils.*, 17, 206-211.
- Saito M., Vargas R. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in some humus rich Ando soils of Japan. *土と微生物*, 38, 3-15.
- Murakoshi T., Tojo M., Walker C., Saito M. 1998. Arbuscular mycorrhizal fungi on adjacent semi-natural grasslands with different vegetation in Japan. *Mycoscience*, 39, 455-462.
- Sawaki H., Sugawara K., Saito M. 1998. Phylogenetic position of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Acaulospora gerdemannii*, and its synanamorph *Glomus leptotichum*, based upon 18S rRNA gene sequence. *Mycoscience*, 39, 477-480.
- Walker C., Vetzberg M., Demirchik F., Stockinger H., Saito M., Sawaki H., Nishimura I., Schüßler A. 2007. Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. nov., *Ambisporaceae* fam. nov. and emendation of *Archaeospora* and *Archaeosporaceae*. *Mycol. Res.* 111, 137-153.
- Orchard S., et al. 2017. Fine endophytes (*Glomus tenue*) are related to Mucoromycotina, not Glomeromycota. *New Phytol.*, 213, 481-486.
- Saito M. 1995. Enzyme activities of the internal hyphae and germinated spores of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall. *New Phytol.*, 129, 425-431.
- Aono T., Maldonado-Mendoza I E., Dewbre G., Harrison M J., Saito M. 2004. Expression of alkaline phosphatase genes in arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.*, 162, 525-534.
- Funamoto R., Saito K., Oyaizu H., Saito M., Aono T. 2006. Simultaneous in situ

- detection of alkaline phosphatase activity and polyphosphate in arbuscules within arbuscular mycorrhizal roots. *Funct. Plant Biol.* 34, 803-810.
- Solaiman M.Z., Saito M. 1997. Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytol.*, 136, 533-538.
- Solaiman M.Z., Ezawa T., Kojima T., Saito M. 1999. Polyphosphate in intraradical and extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 5604-5606.
- Solaiman M. Z., Saito M. 2001. Phosphate efflux from the intraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*, in vitro and their implication to phosphorus translocation in the hyphae. *New Phytol.*, 151, 525-533.
- Bago B., Pfeffer, P. E., Shachar-Hill Y. 2000. Carbon Metabolism and Transport in Arbuscular Mycorrhizas. *Plant Physiol.* 124, 949-958.
- Tisserant E. et al. 2013. Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110 (50), 20117-20122.
- Maeda, T., Kobayashi, Y., Kameoka, H. *et al.* 2018. Evidence of non-tandemly repeated rDNAs and their intragenomic heterogeneity in *Rhizophagus irregularis*. *Commun Biol* 1, 87 (2018) doi:10.1038/s42003-018-0094-7
- Kobayashi, Y., Maeda, T., Yamaguchi, K. *et al.* 2018. The genome of *Rhizophagus clarus* HR1 reveals a common genetic basis for auxotrophy among arbuscular mycorrhizal fungi. *BMC Genomics* 19, 465.
- Uetake Y., Kojima T., Ezawa T., Saito M. 2002. Extensive tubular vacuole in *Gigaspora margarita*. *New Phytol.*, 154, 761-768.
- Ohtomo R., Saito M. 2005. Polyphosphate dynamics in mycorrhizal roots during colonization of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol.*, 167, 571-578.
- Ohtomo R., Sekiguchi Y., Kojima T., Saito M. 2008. Different chain length specificity among three polyphosphate quantification methods. *Analytical Biochemistry*, 383, 210-216.
- Takanishi I., Ohtomo R., Hayatsu M. Saito M. 2009. Short-chain polyphosphate in arbuscular mycorrhizal roots colonized by *Glomus* spp.: A possible phosphate pool for host plants. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1571-1573.

- Saito K., Ohtomo R., Kuga-Uetake Y., Aono T., Saito M. 2005. A direct labelling of polyphosphate at ultrastructural level in *Saccharomyces cerevisiae* using an affinity of polyphosphate binding domain of *Escherichia coli* exopolyphosphatase. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 5692-5701.
- Kuga Y., Saito K., Nayuki K., Peterson R. L., Saito M. 2008. Ultrastructure of rapidly frozen and freeze-substituted germ tubes of an arbuscular mycorrhizal fungus and localization of polyphosphate. *New Phytol.* 178, 189-200.
- Ezawa, T. and Saito, K. 2018. How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine - tuning of phosphate metabolism. *New Phytol.* 220: 1116-1121.
- Saito M., Marumoto T. 2002. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi: the status quo in Japan and the future prospects. *Plant and Soil*, 244, 273-279.
- 唐澤俊彦 2004. 輪作におけるアーバスキュラー菌根菌の動態と作物の生育に関する研究. 北海道農業研究センター研究報告 179, 1-71.
- Tawaraya, K., Hirose, R. & Wagatsuma, T. 2012. Inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi can substantially reduce phosphate fertilizer application to *Allium fistulosum* L. and achieve marketable yield under field condition. *Biol. Fertil. Soils*, 48, 839-843.
- 鈴木貴恵・田島亮介・原 新太郎・清水利規・宇野 亨・伊藤豊彰・齋藤雅典 2015. リン酸肥沃度の高い圃場におけるアーバスキュラー菌根菌：ネギへの接種効果と土着 AM 菌の分離. *土と微生物*, 69, 48-57.
- Suzuki T., Uno T., Tajima R., Ito T., Saito M. 2017. Optimum level of soil available phosphorus for AMF inoculation to Welsh onion in non-allophanic Andosol. 9th International Conference on Mycorrhiza, Prague.
- Niwa R., Koyama T., Sato T., Adachi K., Tawaraya K., Sato S., Hirakawa H., Yoshida S., Ezawa T. 2018. Dissection of niche competition between introduced and indigenous arbuscular mycorrhizal fungi with respect to soybean yield responses. *Sci. Rep.*, 8, 7419.
- 鈴木貴恵・丹羽理恵子・宇野 亨・田島亮介・伊藤豊彰・佐藤修正・平川英樹・吉田重信・江沢辰広・齋藤雅典 2018. 現地農家圃場等におけるネギへの AM 菌資材の接種効果. *土壤肥料学会講演要旨集* 64, 43.

- 丹羽理恵子・佐藤修正・平川英樹・吉田重信・佐藤 孝・鈴木貴恵・齋藤雅典・佐藤 匠・俵谷圭太郎・福永亜矢子・江沢辰広 2018. 機械学習アルゴリズムを用いたネギにおけるアーバスキュラー菌根菌接種効果の発現予測. 土壤肥料学会講演要旨集 64, 41. 2018
- Oba H., Shinozaki N., Oyaizu H., Tawaraya K., Wagatsuma T., Barraquiu W L., Saito M. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungal community associated with some pioneer plants in the lahar of Mt. Pinatubo, Philippines. *Soil Sci. Plant Nutr.* 50, 1195-1203.
- Saito, M. 2010. Significance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Re-Vegetation Process in Nitrogen-Limited Degraded Ecosystems. *Journal of Integrated Field Sciences*, 7, 37- 40.
- Saito M., Oba H., Kojima T. 2011. Effect of nitrogen on the sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing several gramineous plant species. *Soil Sci. Plant Nutr.* 57, 29-34.
- 齋藤雅典 2004. 共生微生物等の機能を利用した荒廃土壌の修復を目指して. *土と微生物*, 58, 99-108
- 丸本卓哉・河野伸之 2001. 火山性荒廃地の菌根菌共生を利用した緑化. *日本緑化工学会誌* 26, 258-264.
- Yokoyama K., Tateishi T., Marumoto T., Saito M. 2002. A molecular marker diagnostic of a specific isolate of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 212, 171-175.
- Yokoyama K., Tateishi T., Saito M., Marumoto T. 2005. Application of a molecular identification method for a *Gigaspora margarita* isolate released in a field. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 51, 125-128.
- 横山和平・立石貴浩・河野伸之・齋藤雅典・丸本卓哉 2002. 接種菌をどのように検出識別するか?: アーバスキュラー菌根菌の場合. *土と微生物* 56, 103-108.
- Kameoka H., Tsutsui I., Saito K., Kikuchi Y., Handa Y., Ezawa T., Hayashi H., Kawaguchi, M. Akiyama, K. 2019. Fatty acids stimulate asymbiotic sporulation in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nat Microbiol.* 4: 1654-1660.