

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 船本 林太郎

アーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) は、植物根内に感染し、宿主から光合成産物を受け取る一方で、土壌から吸収したリン酸を宿主に与える共生菌として知られている。AM 菌はリン酸欠乏土壌などにおいて植物の生育を維持・促進するため、荒廃地の植生回復や低リン酸施肥型農業への応用が期待されているが、AM 菌—宿主植物の共生機構については不明な点が多い。これまでに、AM 菌外生菌糸による土壌からのリン酸吸収機構、および植物による AM 菌由来のリン酸吸収機構については、リン酸輸送体の存在が示されある程度明らかにされてきた。しかし、リン酸の輸送を含め植物へのリン酸供給機構に関しては解明が進んでおらず、特に、リン酸の供給器官と予想されている樹枝状体における AM 菌のリン酸代謝についてはほとんど不明である。本論文は、AM 菌による植物へのリン酸供給機構の理解のために、リン酸の菌糸内輸送および樹枝状体における代謝について研究を行ったもので、5章より成っている。

序論に続く第2章では、AM 菌におけるリンの貯蔵形態であるポリリン酸とポリリン酸の分解に重要な役割を果たすと考えられるアルカリフォスファターゼ (ALP) について、同時に染色して観察する二重標識法の開発を試みた。その結果、ポリリン酸と ALP を同時に観察する手法が確立された。開発された二重標識法により樹枝状体を標識・観察した結果、非成熟樹枝状体では ALP 活性が弱くポリリン酸は多く検出された。一方、成熟した樹枝状体では強い ALP 活性が検出され、ポリリン酸量はほとんど検出されなかった。これは、成熟樹枝状体においてポリリン酸が分解されてリン酸が放出され、その過程に ALP が関与することを示唆している。

第3章では、根内の AM 菌菌糸におけるリン酸代謝制御機構を解明するため、植物側の AM 菌のリン酸取り込みに用いられていると報告されているリン酸トランスポーター (*LjPT3*) の発現の制御を RNAi 法で行い、これが AM 菌のリン酸代謝にどのように影響するか調べた。AM 菌のリン酸代謝への影響を検出するための指標として、成熟樹枝状体におけるポリリン酸および ALP 活性の存在を二重標識法により観察し、抑制区と対照区間で比較を行った。抑制区は対照区と比べ、成熟樹枝状体においてポリリン酸は増加し、ALP 活性は低下した。このことから、植物のリン酸トランスポーター遺伝子の発現抑制が AM 菌のリン酸代謝系に影響を与えることが明らかとなった。また、抑制区では、AM 菌由来のリン酸を植物が吸収できないことから、植物と AM 菌の間の膜間のリン酸濃度が高まると予想される。このような条件下で ALP 活性が低下したことから、AM 菌が樹枝状体内外のリン酸濃度に応じてリン酸代謝を制御する機構をもっている可能性が示唆された。

第4章では、ポリリン酸の合成場所に関する知見を得るため、ポリリン酸合成場所の有力候補である液胞に注目した。酵母では、液胞へのプロトン取り込みに伴いポリリン酸が合成される可能性が示唆されており、AM 菌においても、ポリリン酸合成は外生菌糸内の液

胞を含む酸性の細胞内小器官で行われている可能性が高い。しかしながら、AM 菌の細胞小器官は存在が示されているのみで、その性質についての報告はない。そこで、pH 特異的に蛍光波長が変化する3種の蛍光プローブを用いて液胞と小胞の内部 pH 測定を行った。その結果、発芽菌糸と外生菌糸内に存在する小胞および液胞とも酸性であることが明らかとなった。小胞および液胞が酸性であったことから、これらの内部でポリリン酸が合成されている可能性が示唆された。また、ポリリン酸は液胞全体で観察され、構造も物質輸送に適した管状であることから、合成されたポリリン酸は液胞内で貯蔵・輸送されていると推定した。

以上、本論文はアーバスキュラー菌根菌のリン酸代謝について新しい知見を得たものであり、審査委員一同は学術上、応用上価値あるものと認め、博士（農学）の学位論文として十分な内容を含むものと認めた。