

根圏微生物の菌叢に関する研究

小野 美咲 (筑波大学 生物学類)

指導教員：小林 達彦 (筑波大学 生命環境系)

背景・目的

土壌中において、植物から直接影響を受ける根から数 mm 範囲のことを根圏という。植物は根を通じてフラボノイドやアミノ酸をはじめとする様々な化合物を放出するため、根圏では特殊な環境が形成されている。この根圏に生息する微生物の中には、根を通じて植物と密接に関わっているものが存在する。有名な例としては、根粒菌やアーバスキュラー菌根菌などが知られているが、その他にも植物の根から放出される多様な化合物に応答する微生物の存在が推測される。実際に、植物の根から分泌された物質に応答して植物ホルモンの合成を行う微生物や、植物を有害な昆虫や微生物から防御する物質を合成する微生物の例も知られている。植物と相互作用するこのような根圏微生物に関する研究は、健全な植物の生育や作物生産への応用が期待できることから注目が集まりつつあるが、未だ解明されていない点も多い。

そこで本研究では、植物と根圏微生物の相互作用を解明することを目的とし、圃場から提供されたライムギ根圏を用いてライムギ根圏微生物の単離・解析および機能解明を目指した。

方法・結果

まず、ライムギと関連する根圏微生物の同定を目的として、ライムギ根圏に特徴的な土壌微生物の調査を試みた。圃場でライムギ根圏土壌および対照実験用の非根圏土壌をサンプリングし、それぞれ希釈平板法を用いて土壌微生物の培養を行った。その結果、生育した微生物の中から、細菌様の 107 コロニーと放線菌様の 83 コロニーを単離した。放線菌も細菌の一種であるが、多様な二次代謝産物を生産することが知られており、コロニーの外見も他の細菌とは異なるため区別して単離した。このうちまず、細菌様のコロニーについて 16SrRNA 解析を行ったところ、37 種類の細菌を同定することができた。37 種類の細菌のうち、ライムギ根圏由来のものと同定されたものを比較した結果、ライムギ根圏土壌サンプルのみにみられた細菌は 18 種類、非根圏土壌サンプルのみにみられた細菌は 10 種類、両方のサンプルに共通してみられた細菌は 9 種類存在した。また、ライムギ根圏土壌サンプルおよび非根圏土壌サンプルどちらにおいても、特定の属の細菌が数・種類ともに多く含まれるという傾向が認められたが、ライムギ根圏土壌サンプルでは非根圏土壌サンプルよりも、抗真菌活性物質の生産や植物の成長促進作用が報告されている細菌が比較的多く存在していた。現在、放線菌様のコロニーについても 16SrRNA 解析による同定を行っている。

次に、同定したいくつかの細菌でも報告されていた抗真菌活性に注目し、土壌細菌が植物に病害を引き起こす真菌を抑制する可能性について、抗真菌アッセイにより検討を行った。植物に病害を引き起こすことが知られている真菌を 5 種類選び、それらの真菌と単離した細菌を寒天培地でそれぞれ共に培養した。培養開始から 2 週間後の時点で、土壌細菌による真菌の成長抑制レベル

を 5 段階で評価した。現在、植物由来成分を含む培地を用いた検討およびペーパーディスクを用いた培養上清の抗真菌活性の検討を併せて行っている。

また、同定した根圏細菌と同じ畑の土壌から得られたメタゲノム解析データとの比較検討も現在試みている。