

日本—中国 国際共同研究「第2回生物遺伝資源分野」 ～植物—微生物共生系、微生物叢の機能と制御に着目した基盤技術の創出～ 平成29年度 年次報告書	
研究課題名（和文）	根圏微生物を活用したアブラナ科植物の効率的リン酸利用技術の開発
研究課題名（英文）	Improvement of phosphate utilization in Brassicaceae plants by root microbiome
日本側研究代表者 氏名	西條 雄介
日本側研究代表者 所属・役職	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科・准教授
研究期間	平成29年12月 1日～平成33年 3月31日

1. 日本側の研究実施体制

氏名	所属機関・部局・役職	役割
西條 雄介	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・准教授	研究総括、有用微生物の機能解析・ゲノム解析及び利用法の開発
晝間 敬	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教	根圏微生物の単離と有用菌の選抜、比較ゲノム解析

2. 日本側研究チームの研究目標及び計画概要

本年度の目標

日本チームは、低リン条件の土壌に生育する植物の根圏に存在する糸状菌の菌叢構造を理解するために、メタ ITS 解析を行う。低リン土壌で生育するアブラナ科植物の根圏糸状菌の単離を開始する。メタ ITS 解析の結果は、根圏サンプルから検出された糸状菌のうち実際にどの程度糸状菌を単離できているか、検証するために用いる。

計画・方法

様々なリン栄養枯渇土壌を入手し、滅菌作業ありと滅菌作業なしの土壌を用意して、そこでシロイヌナズナやアブラナ科野菜を生育させる。その後、根から糸状菌の単離を目指す。奈良先端大の実験圃場でアブラナ科野菜（ダイコン・コマツナ等）を育て、その根から糸状菌の単離を目指す。根の回収後は、根を断片化した後に、表面殺菌（70%エタノールと次

亜塩素酸) し、その後、糸状菌の栄養培地で培養し、菌のコロニーが出現するのを待つ。以上の方法における目標単離株の数は、今年度は、50 株程度とする。

単離した糸状菌は、グリセロールストック等の形で保存するとともに、リン栄養枯渇条件下で植物成長を促すかどうかシロイヌナズナを用いて調査する。植物成長を促すことが判明した菌株に関しては、栄養十分条件における植物成長促進効果の有無や、ITS 領域のシーケンスによりその属名を決定するとともに、大まかな類縁関係を把握する。

単離と同時に、リン栄養枯渇土壌で生育する植物の根圏に存在する微生物群の構成について、ITS 領域を用いたメタゲノム解析により、その情報を取得する。今年度は、試行した土壌の中で、滅菌作業の有無で植物成長が大きく変化した土壌を主として用いて解析を進める。メタゲノム解析の結果と、単離結果を照らし合わせることで、全体のうち単離できた糸状菌の割合を把握し次年度以降の単離計画に活かす。

3. 日本側研究チームの実施概要

アブラナ科植物からの糸状菌・細菌の単離およびその植物成長促進効果の有無の調査

奈良先端大の実験圃場でアブラナ科野菜（ダイコンおよびコマツナ）を育て、その根から糸状菌の単離を行なった。現時点では、得られた糸状菌のコロニーの形態の情報から、70 種ほどを単離した。また、当初の計画に加えて、同じ野菜のサンプルから細菌の単離も行った。現時点では、20 種類ほどを単離した。次に、単離した糸状菌・細菌をシロイヌナズナに接種し、貧栄養環境下で植物成長を促すかどうか調査した。15 種類の糸状菌を調査したところ、通常栄養条件では植物成長を促す菌株を2種類同定した。一方で、貧栄養環境下でその効果は認められなかった。今後、単離した菌のスクリーニングを継続する。細菌に関しては、貧栄養環境下で植物の根の成長を促す株を3種類同定した。リン欠乏条件下では、植物は適応応答として主根の伸長を停止し、その後もリン欠乏が続くと根系全体の成長が阻害される。ところが、上記3種類の細菌を接種することにより根系の成長が促された。以上の菌株は、グリセロールストックにて保存した。

リン栄養枯渇土壌で生育する植物の根圏に存在する微生物群の構成について、ITS 領域を用いたメタゲノム解析により取得した

入手した栄養枯渇土壌を何種類か試験して、その中で植物成長がよい土壌を用いて、リン栄養枯渇土壌とリン十分土壌（リン栄養を与える）で生育させた植物の根圏および土壌に存在する微生物叢（糸状菌・細菌）についてメタ ITS/16S 解析により調査した。細菌に関しては、宿主植物由来のミトコンドリアとクロロフィルのコンタミを防ぐための条件検討をその結果、特定の PNA を添加することで著しく植物由来のコンタミを防ぐことが可能であることが判明した。土壌内の微生物叢はもともとは同じ土であったにも関わらず、リン栄養の有無によりその構成が大きく変化した。