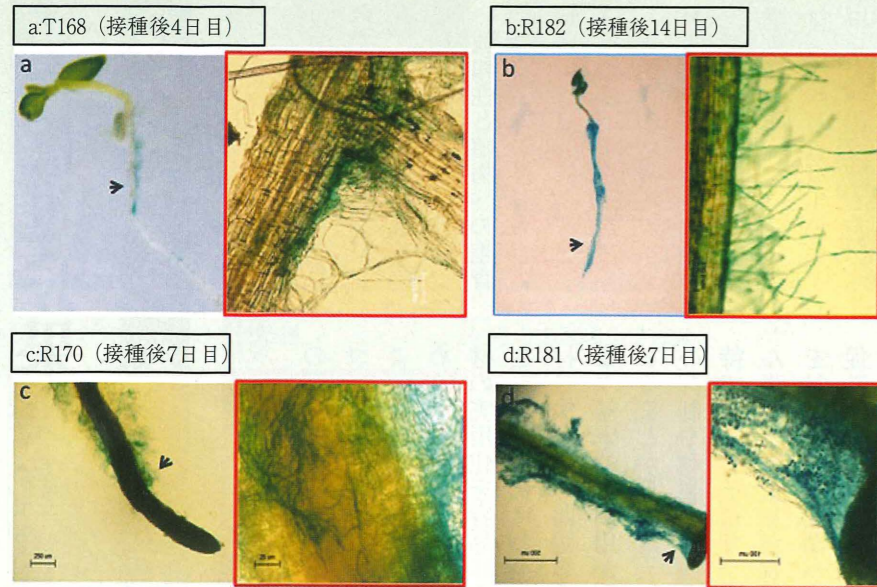
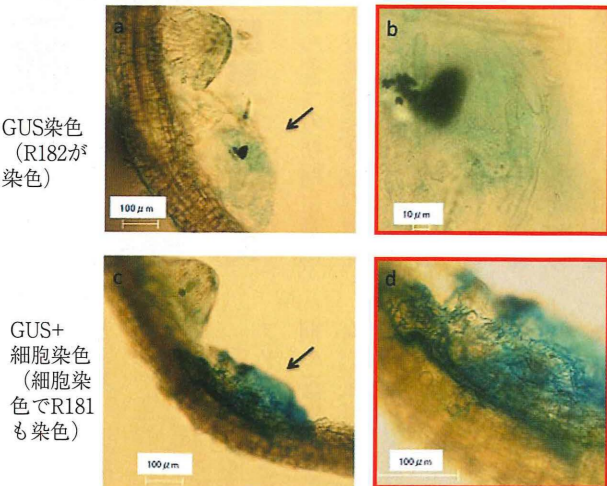


図2 有用細菌の馬鈴しょの根における感染初期の局在性比較



※赤枠の右パネルは感染域(矢印)の拡大を示す

図3 混合接種(R181+R182)におけるR181とR182の馬鈴しょの根における局在性



※赤枠の右パネルは感染域(矢印)の拡大を示す

馬鈴しょの根の同じ部位をGUS染色、次に細胞染色を行い光学顕微鏡で観察した。GUS染色によりR182(GUS標識株)は染色されるが、R181は染色されない。細胞染色によりR181は染色される。R181の感染によりR182の根毛への感染が抑制されている。

とから、特に側根基部とその近傍を起点として感染を拡大し、共生関係を構築すると考えられた。R182は、接種直後から根毛の先端付近から基部へと感染し、根毛全体に局在した(図2)。その後、根や茎の表皮に感染が拡大したことから、根(根毛)を起点と

して共生関係を構築すると考えられた。一方、R170とR181は、接種後数日程度で菌糸が根全体を覆うように局在した(図2)。その後、茎や葉面へと感染が拡大したことから、根を起点として根面を覆うように感染を拡大し、共生関係を構

築して行くと考えられた。このように、植物組織局在性は菌株(系統)により異なることが明らかになった。有効な混合接種法など、資材開発の重要情報に

有用細菌の植物組織局在性が分かると、植物の生育促進に効果的な接種の部位や方法に関する知見が得られ、有効な微生物資材の開発に重要な情報を提供できる。

例えば、有用細菌の混合接種における植物生育促進

効果を評価する上でも重要な情報が得られる。4菌株間の増殖拮抗の解析および2菌株の混合接種による馬鈴しょの初期生育に与える影響を調べたところ、T168と混合接種した場合、植物体重量がT168単独接種の場合よりおよそ30~40%増加した。しかし、R182と混合接種した場合、R181との組み合わせでは特に接種効果が低下し、R182の主要感染域である根毛への感染が著しく抑制された(図3)。これらの結

さらに植物組織局在性は宿主から強い影響を受けることが分かっており、局在性観察に基づいた有用細菌の宿主に対する柔軟な感染戦略を探り、有用細菌の機能を十分に発揮できる効果的かつ新規な活用技術の提案を目指している。



効果的接種部位などの知見得る

〈馬鈴しょ〉有用細菌の植物組織局在性明らかに

帯広畜産大学教授

大和田 琢二

共生微生物の植物組織局在性(植物のどの場所にいるかということ)や定着性の情報が十分ではないため、有用な微生物が効果的に活用されていないという問題がある。北海道農業研究センター(芽室研究拠点)の菌叢解析と接種試験の結果から、植物の定着性と生育促進効果が認められた有用細菌を標識・可視化し、植物組織局在性から有用細菌の効果的な活用法の基盤情報を得た。

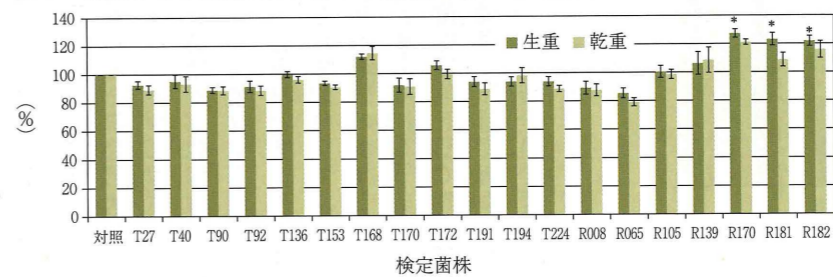
初期生育を促進する4菌株を選抜

馬鈴しょ(品種「マチルダ」)から組成の異なる各種培地を用いて細菌のコロニーを単離し、16S rRNA遺伝子の5'末端側約100~600塩基が決定した。一方、馬鈴しょの細菌



写真 馬鈴しょの初期生育に対する分離細菌株の影響(播種1カ月後)

図1 馬鈴しょの初期生育に対する分離細菌株の接種効果*



※対照の生育量を100%とした場合の生育比の相対的比較を示す(*はp<0.05で有意差あり)

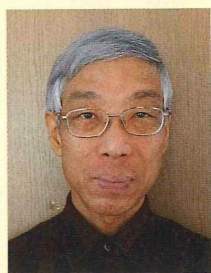
細胞画分からDNAを調製して、16S rRNA遺伝子からクローニングライブラリーを構築し、5'末端側約100~600塩基のシーケンス解析により共生細菌の群集構造を解析した。この非培養法との比較解析から、馬鈴しょの根に優占的で培養可能な細菌が特定された。

2011年度は2000株、13年度は1800株からのおおの約20株を供試した。育苗培土に馬鈴しょ

種子(品種「ホッカイコガネ」)を播種し、菌懸濁液を接種後1カ月目の植物体地上部の生(乾)重量から各供試株の生育促進効果を算出した。その結果、生育を阻害する菌株も認められたが、3菌株に生育促進効果が認められた(写真、図1)。これに生育促進効果の傾向を示した1菌株を加えた4菌株(プロテオバクテリアのT168とR182、アクチノバクテリアのR170とR181)が有用細菌として選抜された(図1)。

菌株によって起点や感染拡大の仕方異なる

標識供与体(GUS遺伝子)の導入により細菌を標識する際、標識供与体のマーカーとなる抗生物質は細菌に対する感受性が高い必要がある。T168とR182は感受性が高かったため、GUS標識株が構築された。一方、R170とR181は感受性が低かったことから、細胞染色により菌体を植物体組織と識別す



おわだ たくじ
北海道大学大学院農学研究科博士課程修了。農学博士。1989年日本学術振興会特別研究員、91年帯広畜産大学助手(畜産学部)、95年3~12月文部省在外研究員、98年帯広畜産大学講師、99年同大助教授を経て、2014年から現職。56歳。京都府出身。

る技術を確認した。液肥を含む寒天培地上に播種し、発芽した植物体に有用細菌の懸濁液を接種した。有用細菌が接種された植物体を、基質(X-Glu c)を含む緩衝液中で反応させ、有用細菌のGUS活性による青呈色から局在性を観察した。T168は接種後1日目には根の複数の領域に感染が確認された後、側根基部とその周辺領域に強く局在した(図2)。その後、主根表面や葉(気孔)へと感染が拡大したこ

果は混合接種を行う場合、植物組織局在性が異なり増殖拮抗しない(共存できる)組み合わせが有効であることを示している。

局在性に宿主の影響大 柔軟な感染戦略探る

14年度から開始された農水省「農食事業(26065B)」では、てん菜から選抜された有用細菌の植物組織局在性と生化学的解析も行い、有用細菌の効果的な活用について検討している。植物体への感染が強く、安定した局在性を持ちながら、植物の生育促進や生物防除に関わる機能を併せ持つ有用細菌が見いだされておられ、てん菜への活用を目指して検討を加えている。