

課題研究要旨

道北地域の土壌からのエンドファイトの単離

丸山洋介¹⁾* 安藤清一²⁾

¹⁾ 名寄市立大学保健福祉学部栄養学科 ²⁾ 神戸女子大学家政学部管理栄養士課程

はじめに

植物の根圏(土壌中)には多くの微生物が存在し、植物との相互作用が報告されている。植物に共生する微生物の総称はエンドファイト(Endophyte)と言われている。

エンドファイトが植物に感染する事で、病害抵抗性の活性化、塩ストレスや乾燥ストレスに対する抵抗性の付与など植物に対して有用な働きをする事が報告されている。これまでに道北地域(名寄市周辺)からエンドファイトが単離されたという報告はなく、植物にとって有用なエンドファイトを道北地域から単離できる可能性があり、さらに単離されたエンドファイトを用いて道北地域の農作物生産に寄与できると考える。

1. 実験方法

1) 土壌のサンプリング

名寄市立大学の敷地内の 10 カ所から土壌をサンプリングした。サンプリングした土壌は実験を行うまで冷暗所に保管した。

2) エンドファイトの単離

サンプリングした土壌に市販されているナスの種子を播種した。ナスの品種はトーホク交配の紫彩を用いた。播種後1ヶ月間、インキュベーターで生育した。その後、根端部分をサンプリングした。サンプリングした根は表面を殺菌後にコーンミール培地に静置し、その後、室温で1ヶ月程度培養を行った。

3) 単離したエンドファイトの同定

単離したエンドファイトから DNA を抽出し、16s rRNA の遺伝子領域の v3-4 の間に設計したプライマーを用いて PCR を行い、遺伝子領域を増幅した。その後、カラムによって精製し、シーケンスの解析を行った。

2. 結果

大学の敷地内から採取した土壌を用いてナスを1ヶ月間インキュベーターで生育した(図1)。サンプリングを行なった土壌の種類によって、ナスの生育に差が見られた。その後、根端部を単離して洗浄を行い、コーンミール培地を用いて1ヶ月間室温で培養した。

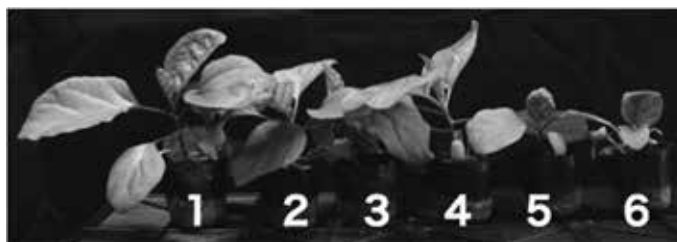


図1 インキュベーターで1ヶ月生育したナス

培養したエンドファイトから DNA を抽出し、16s rRNA の遺伝子領域の v3-v4 領域を PCR によって増幅した(図2)。その後、PCR 産物をカラムで精製した後、シーケンスの解析を行なった。

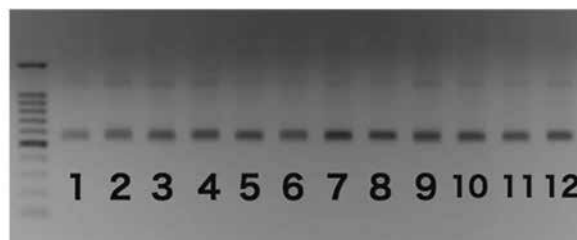


図2 v3-v4 領域を増幅した PCR 産物の電気泳動

*責任著者 E-mail:yamaruyama@nayoro.ac.jp

3. 今後の予定

単離したエンドファイトのシーケンスデータを blast 検索する事でエンドファイトの同定を行う。結果を 2022 年度の年報で報告する予定である。

参考文献

成澤才彦 (2011) エンドファイトの働き方と使い方, 農山漁村文化協会, 東京都.