

## シロイヌナズナの根の変異が根圏細菌相に及ぼす影響

農業研究センター 岡 紀邦

okan@narc.affrc.go.jp

### はじめに

土壌微生物を利用した土壌病害の生物防除や作物の生育促進に関する研究が盛んに行われている。このような作用を担う根圏生息性の細菌をPGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) と呼んでいるが、広く実用に至ったものはわずかである。問題の一つは効果が不安定なことで、その原因の一端は目的微生物の根圏への定着性にあると考えられている(Weller, 1988)。

根の影響を受けて根圏の微生物相が非根圏のそれと異なることはよく知られているが、同じ根圏でも植物の種類によって、または品種によって微生物相が異なることも報告されている(例えば、Miller et al., 1989)。しかし、これらの違いをもたらす因子についての説明はあまり進んでいない。

そこで筆者らは、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の変異体の中から根に変異を持つものを選び、根圏細菌相に及ぼす変異の影響を調べることにした(Oka et al., 1997)。シロイヌナズナは、ゲノムサイズが小さいこと、ライフサイクルが短いこと、遺伝子操作が容易である等の理由で、遺伝学研究のモデル植物となっているため、様々な変異体が入手可能と考えられたからである。根に変異があり、かつ普通の土壌で良好に生育できるものはそれほど多くなかったが、根毛数が2倍である変異体 gl2 (Masucci et al., 1996) とグルコシノレイト組成が変化した変異体 gsm-1 (Haughn et al., 1991) を入手し実験を行った。根毛数の変化は根の分泌物量に影響するのではないかと予想した。また、グルコシノレイトはアブラナ科等の植物に含まれ、その分解産物は抗菌活性をもつことから細菌相に影響を与えると予想した。

### 根圏細菌相の比較

#### (1) 親株における根圏細菌相の遷移

予備的な試験として、シロイヌナズナ (エコタイプ Landsberg erecta) の根圏細菌相の変化を初めに調査した(図1)。10日ごとに根圏と非根圏の土壌から細菌をランダムに単離し、各細菌のグラム反応、孢子形成能のテストを行った。非根圏では全体の構成比がほとんど変化していないのに対して、根圏ではグラム陰性細菌が36% (10日目) から87% (29日目) に増加していた。また、このグラム陰性細菌の増加分はグラム陽性の孢子形成菌の減少分に相当していた。グラム陰性細菌が根圏で優先してくることは他の植物でも観察されている(例えば、Kloepper et al., 1992)。このことの原因は正確には分かっていないが、グラム陽性菌よりもグラム陰性菌の方が根から供給される有機物を利用する能力が高いからと考えられている。

#### (2) 変異体と親株の比較

細菌相の変化を見るため、人工気象室内で同一土壌を使いシロイヌナズナの変異体と親株を栽培した。変異体の根圏、親株の根圏、および非根圏土壌(植物なしの土壌だけのポット)から細菌を

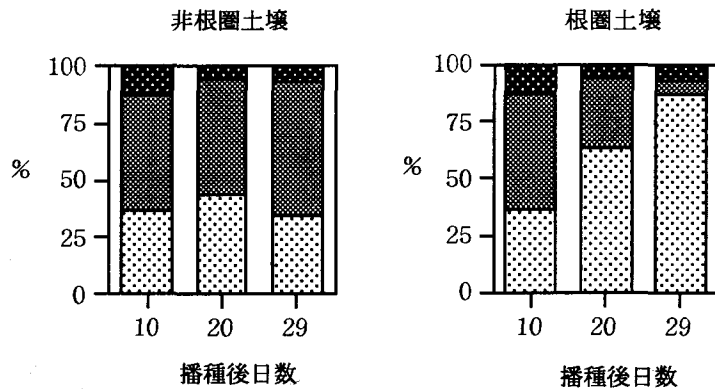


図1 シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*, ecotype Landsberg erecta) の生育に伴う細菌相の遷移

- グラム陰性細菌
- グラム陽性細菌 (孢子形成能+)
- グラム陽性細菌 (孢子形成能-)

表1 脂肪酸組成のライブラリによる分離細菌の同定の可否

	非根圏土壌	Landsberg erecta	gl2	非根圏土壌	Columbia	gsm-1
同定 ○	36	15	24	27	16	32
同定 ×	30	54	46	38	48	40
合計	66	69	70	65	64	72

75株ずつ単離し、菌体脂肪酸組成を求めて分類した。

菌体脂肪酸は、炭素数や二重結合数の違い、ヒドロキシ基の有無など多様であり、近縁な細菌間でも構成比に違いがあるため分類の重要な指標になっている。また、ガスクロで比較的簡単に分析でき、脂肪酸組成のデータベースも整備されてきているので、多数のサンプルを短時間で処理するのに適している。

根毛数が2倍である変異体 gl2 の親株はエコタイプ Landsberg erecta、グルコシノレイト組成の変化した変異体 gsm-1 の親株はエコタイプ Columbia である。求めた脂肪酸組成を既存の脂肪酸ライブラリと比較したところ、非根圏土壌から分離した菌株では約5割、根圏から分離した菌株では約7割が、ライブラリにある種と一致せず、同定できなかった (表1)。

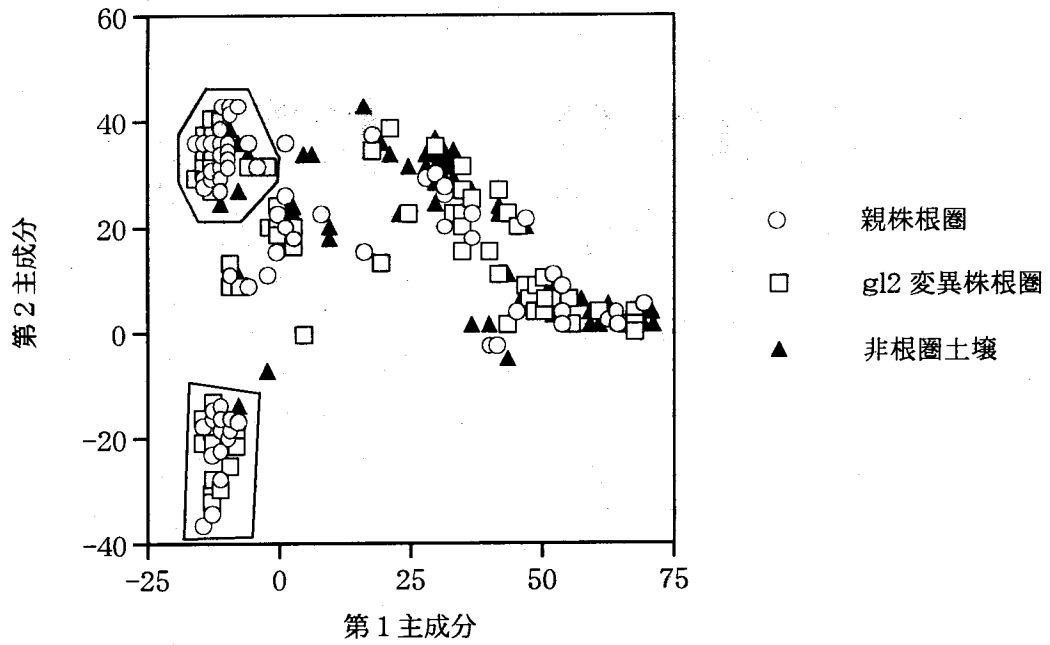


図2 単離した細菌の脂肪酸組成の比較  
 (実験1: 根毛数が2倍である変異体 gl2 に対して)

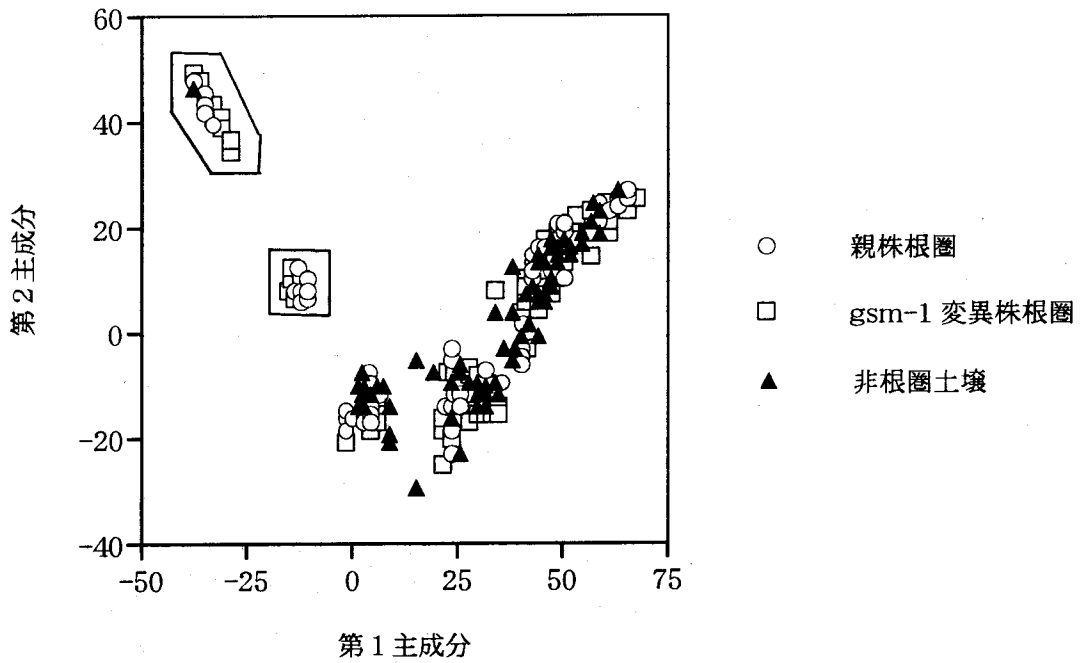


図3 単離した細菌の脂肪酸組成の比較  
 (実験2: グルコシノレイト組成が変化した変異体 gsm-1 に対して)

次に、主成分分析による脂肪酸プロファイルの解析を行った。主成分1と主成分2で各菌株をプロットしたのが図2 (gls) と図3 (gsm-1)である。どちらの図も線で囲ったグループ内には非根圏土壌からの菌株がほとんど含まれておらず、非根圏土壌と根圏土壌の間に差のあることが分かる。一方、変異体と親株の差はどちらの実験においても認められなかった。このことはこれら変異が、培養可能な好気性細菌にはあまり影響を及ぼさないことを示している。興味深いことに、根圏からの菌株が優先するグループ（図中に線で囲ったもの）に属する菌株のほとんどがライブラリに存在しない種（同定できない）であった。これらの菌株を詳しく調べることで根圏環境に適した細菌の性質が明らかになっていくと考えられる。

なお、gl2の親株である *Landsberg erecta* と gsm-1の親株である *Columbia*の間でも、同様に主成分分析を行い、根圏細菌相を比較した。実験はもともとエコタイプ間の比較を行うために計画されたものではないが、2つのエコタイプ間では根圏細菌相に差異が認められた。

### おわりに

現在は同一条件で栽培したトマトとホウレンソウの根から分離した細菌群について、種の構成の比較を行っている。それぞれの作物の根に特徴的なグループが存在すると予想して実験を進めている。それらの細菌群が根の分泌物に対してどのような反応を示すのかを今後は検討していく予定でいる。

### 引用文献

Haughn, G. W. et al. (1991): Biochemical Genetics of Plant Secondary Metabolites in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 97: 217-226

Klopper, J. W. et al. (1992): Comparative identification by fatty acid analysis of soil, rhizosphere, and geocarposphere bacteria of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant and Soil* 139: 85-90

Masucci, J. D. et al. (1996): The homeobox gene *GLABRA 2* is required for position-dependent cell differentiation in the root epidermis of *Arabidopsis thaliana*. *Development* 122: 1253-1260

Miller, H. J. et al. (1989): Variation and composition of bacterial populations in the rhizospheres of maize, wheat, and grass cultivars. *Canadian Journal of Microbiology* 35: 656-660

Oka N., et al. (1997): Effect of plant genotype on rhizobacterial composition of *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the Fourth International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Japan-OECD Joint Workshop*: 437-440

Weller, D. M. (1988): Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26: 379-407

Effect of root mutation on rhizobacterial composition of *Arabidopsis thaliana*

OKA Norikuni