

令和 3 年 6 月 13 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07634

研究課題名(和文) サツマイモの塊根肥大を促進する新たなエンドファイトの機能解明

研究課題名(英文) Elucidation of new function of endophyte that stimulate storage root development in sweet potatoes

研究代表者

大脇 良成 (Ohwaki, Yoshinari)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・研究領域長

研究者番号：60355542

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：サツマイモより分離したエンドファイト細菌の接種により、サツマイモ塊根の初期肥大が促進されることを明らかにした。この菌接種による塊根の初期肥大の促進は、地上部の生育促進を介してではなく、根への直接的な影響である可能性が示唆された。菌を接種した根では、ストレス応答、シグナル伝達、代謝等に関連する多様な遺伝子発現の増減が認められた。今後、これらの遺伝子応答の特徴を明らかにし、エンドファイト接種によるサツマイモの塊根肥大促進のメカニズムを明らかにする予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、植物生育促進作用を持つエンドファイトは、多数報告されてきた。しかし、これらの多くは根や茎の伸長促進作用を示すものであり、塊根の肥大を促進するエンドファイトは報告されていない。本研究で明らかになったエンドファイトの塊根肥大促進機能は、エンドファイトの新たな有用形質を示すものであり、微生物機能により塊根収量を増大させるための新たな技術開発の基礎が築かれるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Sweet potato (*Ipomoea batatas*) is an important root crop for staple food throughout tropical and warm temperate regions. The physiological process and environmental factors affecting storage root formation have been extensively studied. To date, however, the effects of endophytic bacteria on the storage root development have not been examined. To evaluate the effects of colonization of endophytic bacteria on storage root development, the strain isolated from sweet potato was inoculated to micropropagated sweet potato under the pot condition. Inoculation of endophytic bacteria resulted in a promotion of initial thickening growth of storage root. Increase in storage roots weight upon inoculation of endophytic strain was also recorded in later growth period. The inoculation of bacteria affected the expression of variety of genes including metabolic process, signal transduction and stress response in roots.

研究分野：植物栄養

キーワード：エンドファイト サツマイモ

### 1. 研究開始当初の背景

植物体内に生息する微生物は植物内生菌(エンドファイト)と呼ばれ、宿主である植物と様々な相互作用を示すことが知られてきている。これらのうち、空中窒素固定による宿主への窒素の供給や、病原菌に対する耐性の向上は、エンドファイトの有用機能として広く研究が進められており、遺伝子レベルでのメカニズムも明らかになりつつある(Ryan et al. 2008)。また、有用なエンドファイトを微生物資材として利用し、農業生産に役立てる研究も進められている。今後、エンドファイトの新たな有用機能と、そのメカニズムが明らかになることにより、生物機能を利用した環境調和型作物生産技術が開発されるものと、強く期待される。

### 2. 研究の目的

研究代表者らは、サツマイモから窒素固定能を持つエンドファイトを分離し、その機能解明を進めてきた(Terakado-Tonooka et al. 2013)。その過程で、塊根内部から分離したエンドファイトを接種したサツマイモでは、塊根の肥大が促進されることを見出した。サツマイモの塊根分化や肥大については、サイトカイニンやアブシジン酸などの植物ホルモンが塊根分化に関与し、その後炭水化物、窒素化合物の転流・蓄積が行われ肥大が進行するものと考えられている(渡辺和之、1984)。しかし現在まで、これら塊根の分化や肥大に関連する要素が、エンドファイトの感染によりどのように影響されるかは、全く検討されていない。

近年まで、他殖性の同質六倍体のため遺伝解析やゲノム解析が極めて困難なサツマイモについては、遺伝子レベルの研究がほとんど進んでいなかった。そのため、塊根形成のような重要形質についても、詳細なメカニズムは解明されていない。しかし近年になって、次世代シーケンサーの急速な普及により、サツマイモを含めたゲノム情報が明らかになっていない植物においても、遺伝子レベルでの解析が可能となり、塊根形成についても新たな知見が得られ始めている(Firon et al. 2013)。

そこで本研究では、エンドファイトによるサツマイモの塊根形成促進過程を詳細に検討するとともに、遺伝子の網羅的解析技術等を用いて、これまで未解明であったサツマイモの塊根形成におけるエンドファイトの新たな機能を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) エンドファイトの接種がサツマイモの塊根発達に及ぼす影響

サツマイモ体内より分離したエンドファイトに抗生物質耐性を付与し、無菌培養したサツマイモ苗(写真1)の根に浸して菌を接種した。接種したサツマイモ苗は、土壌を充填したポットに移植し、ガラス室内で栽培した。対照として、菌非接種の区を設けた。塊根形成前および塊根形成後に各区より植物体を採取し、地上部と地下部に分け生育を調査した。また、それぞれの植物部位を滅菌水で洗浄した後、磨砕抽出し選択培地で感染した接種菌の菌数を計数した。



写真1. 無菌サツマイモの苗

#### (2) エンドファイトの接種がサツマイモの根の遺伝子発現に及ぼす影響

エンドファイトの野生型株を、上記と同様、無菌培養したサツマイモ苗に接種し、ポットで栽培した。塊根肥大前と塊根肥大初期の時期にサンプルを採取し、地上部と地下部に分けて生育調査を行うとともに、塊根の肥大状況を観察した。根のサンプルについては、肥大初期の根と細根に分け、それぞれの部位から RNA を抽出した。抽出した RNA は純度を確認した後 cDNA を合成し、シーケンスライブラリーを作成し、次世代シーケンサーを用いて遺伝発現の網羅的解析を行った。

#### 4 . 研究成果

##### ( 1 ) エンドファイトの接種がサツマイモの塊根発達に及ぼす影響

エンドファイトを根に接種したサツマイモでは、調査したいずれの生育時期においても、根および茎で接種菌の感染が検出された。生育が進むと、茎、根いずれにおいても菌の感染はわずかに低下する傾向にあった。塊根形成後の調査では、菌の接種により塊根の発達が促進する傾向が認められた。

##### ( 2 ) エンドファイトの接種がサツマイモの根の遺伝子発現に及ぼす影響

塊根形成初期の根の生育に対する菌接種の影響を観察したところ、細根の発達には大きな影響は見られなかったが、塊根の初期肥大がエンドファイトの接種により促進される傾向が認められた。一方、同じ時期の地上部の生育には菌接種の影響は認められず、また葉の光合成速度も菌接種により変化しなかった。これらのことから、菌接種による塊根の初期肥大の促進は、地上部の生育促進を介してではなく、根への直接的な影響である可能性が示唆された。そこで、菌接種に対するサツマイモの根の反応を遺伝子発現の面から解析するため、次世代シーケンサーを用いて遺伝子発現の網羅的解析を行った結果、塊根形成初期の根および細根では、エンドファイトの接種によりストレス応答、シグナル伝達、代謝等に関連する多様な遺伝子発現の増減が認められた。今後、これらの遺伝子応答の特徴を明らかにし、エンドファイト接種によるサツマイモの塊根肥大促進のメカニズムを明らかにする予定である。

#### < 引用文献 >

Ryan RP et al. (2008): FEMS Microbiol Lett, 278, 1-9

Terakado-Tonooka J et al. (2013): Plant Soil, 367, 639-650

渡辺和之 ( 1984 ) : 作物の生態生理 ( 文永堂 ) , 323-372

Firon N et al. (2013): BMC genomics, 14, DOI: 10.1186/1471-2164-14-460

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yoshinari Ohwaki, Junko Terakado-Tonooka, Keiki Okazaki
2. 発表標題 Inoculation of endophytic bacteria stimulate the storage root development in sweet potatoes
3. 学会等名 Microbe-Assisted Crop Production- Opportunities, Challenges and Needs (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岡崎 圭毅  (Okazaki Keiki)  (40414750)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・上級研究員    (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------