

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2019～2021

課題番号：19KT0033

研究課題名(和文) 豊かな土壌微生物群をはぐくむ野生トマトに学ぶ新たな作物遺伝資源の開発

研究課題名(英文) Developing crop genetic resources from a wild tomato cultivar fostering species-rich soil microbiota

研究代表者

橋本 将典 (Hashimoto, Masayoshi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教

研究者番号：20615273

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：土壌における多種多様な微生物叢は、農業の安定性と生産性を支えている。こうした土壌微生物と作物の相互関係は、作物の共生能力によって決まる。しかし近代的な育種によって作物で共生能力が低下し、土壌微生物叢が貧弱になる事例が知られている。本研究では、野生トマトと栽培トマトを材料に、それぞれの根圏に共生する細菌叢と糸状菌叢を解析する系を確立し、品種間で根圏微生物叢の比較を行なった。また、トマト地上部におけるイオノーム解析からは、野生トマトで有意に変動するイオンを特定した。根圏微生物叢のデータ解析は現在進行中であるが、品種の違いは根圏微生物叢の多様性を有意に説明することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、野生トマトと栽培トマトを材料に、作物の生産性をささげる根圏微生物叢の比較解析を行なった。詳細なデータ解析は未だ進行中だが、品種による違いが有意であることが示唆された。本研究の成果は、野生トマトと栽培トマトの違いに着目し、野生トマトが持つ共生能力を決める遺伝的要因を明らかにするための重要な情報となる。本研究の重要性は、本研究と同様に野生トマトを含めて複数のトマト品種間で根圏微生物叢の比較解析を行なった論文がいくつか発表されたことから伺われる。今後、本研究の成果を投稿論文としてまとめる予定である。

研究成果の概要(英文)：Soil microbiota, which consists of a wide variety of microbes, is crucial for agricultural productivity and stability. The interaction found between crops and soil microbiota is modulated by the symbiotic capacity of crops. However, there are several cases that modern breeding practices have decreased the symbiotic capacity of crops, resulting in poor soil microbiota. This study established a protocol to analyze the soil bacterial and fungal microbiota in the rhizosphere of wild and cultivated tomatoes, and compared the rhizosphere microbial community structures between cultivars. Ionome analysis of the tomato rhizosphere identified that some ions are differentially accumulated in the wild tomato. Although data analysis of rhizosphere microbiota is still ongoing, the results suggest that the tomato genetic difference has significant effect on the rhizosphere microbiota structure.

研究分野：植物微生物相互作用

キーワード：土壌微生物 トマト 作物遺伝資源

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

耕地土壌に生息する微生物の群集「土壌微生物叢」は、病害の抑制や栄養循環を通じて、農業の安定性と生産性を支えている。例えば菌根菌は、植物のリン吸収のほか、環境ストレス耐性や耐病性を向上させる。作物の健康な成長は、土壌微生物叢が持つ様々な機能によって成り立っている。これらの土壌微生物叢の機能を理解し最大限に利用すれば、農薬や肥料などを削減でき農業生産の持続可能性向上に貢献できる。

このような土壌微生物叢の機能は、作物から強い影響を受け、微生物叢の機能に関わる多様性や種構成が大きく変化する。このような土壌微生物叢と作物の相互作用の大部分は、作物が持つ「共生能力」により決まる。植物が持つ共生能力は、輪作などの形で農業生産に古くから利用されてきた。特に、植物が持つ共生能力は植物の種類ごとに異なっており、輪作における作付け体系の良し悪しを左右する。しかし、作物の共生能力が複雑な土壌微生物叢をどのように制御しているのか、その全体像は不明である。

### 2. 研究の目的

耕地土壌における多種多様な微生物叢(土壌微生物叢)は、植物に発生する病気を抑えたり、栄養の吸収を助けたりすることにより、農業の安定性と生産性を支えている。このような土壌微生物叢の働きは、作物から強い影響を受けている。こうした土壌微生物と作物の相互関係は、作物の「共生能力」によって決まる。しかし近代的な育種によって多くの作物で共生能力が低下し、土壌微生物叢が貧弱になっている。本研究は、野生トマトと栽培トマトを材料に、野生トマトが持つ共生能力の特徴を明らかにするため、トマト品種間で根圏に生息する微生物叢の比較を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 植物体の準備

植物には、野生トマト *Solanum pimpinellifolium* および栽培トマト *S. lycopersicum* を用いた。それぞれの種子は、70%エタノールで2回洗浄した後、50%アンチホルミンと0.01%Tween 20に置換し5分間室温で静置することにより滅菌を行なった。土は、関東近郊の2箇所の圃場からサンプリングした。ふるいにかけて土をポットに充填し、播種を行なった。栽培期間はおよそ4週間とした。

#### 細菌叢解析、糸状菌叢解析

3週間生育させたトマトから根圏サンプルを回収した。サンプルの回収は、et al に従った。回収した根圏サンプルは、 $-80^{\circ}\text{C}$  で保存した。続いて根圏サンプルからDNAを抽出した。DNA抽出には、アイソイル(ニッポンジーン)を用い、Quant-IT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) によりDNA濃度を測定した。シーケンスライブラリーの作成では、PCRにTks Gflex DNA Polymerase とともに、細菌の *16S rRNA* 遺伝子の V5-V7 領域に設計されたプライマー(799F および 1192R) もしくは糸状菌の ITS1 領域に設計されたプライマーを用いた。また、PCR産物の精製は、細菌叢解析では QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN) を用いて目的サイズの増幅産物を切り出し、糸状菌叢解析では AMPure XP を用いて 100bp 以下の DNA 断片を除くことによって行なった。シーケンスには、Miseq (Illumina) を用いた。

#### イオノーム解析

圃場土で生育したトマトの植物体地上部を3日間乾燥させた。乾燥させた地上部は乳鉢を用いて細かく破碎し、硝酸分解を行なった。イオノームの測定には、ICP-MSを用いた。

### 4. 研究成果

#### (1) 根圏の細菌叢、糸状菌叢の解析系の確立

本研究では、野生トマトと栽培トマトの根圏微生物叢を比較するため、根圏微生物叢のうち、細菌叢と糸状菌叢を解析する実験系の確立をおこなった。細菌については、細菌の *16S rRNA* 遺伝子の V5-V7 領域に設計されたプライマーセットが有効であった。宿主であるトマトに由来する葉緑体やミトコンドリア由来の増幅産物は、PCR産物のゲル精製とシーケンス後のデータ解析の段階で除去が可能であった。

糸状菌については、ITS1領域に設計したプライマーセットを比較し、宿主由来の配列の混入が少ないものを選定した。また、多くのサンプルを一度のシーケンスランで効率よく処理できるようにするために、8塩基ずつをPCR産物の両端に付加する dual index システムを用いることとした。

#### (2) 野生トマトおよび栽培トマトの根圏微生物叢の比較解析

確立した根圏微生物叢の解析系を用いて、野生トマトと栽培トマトの根圏に共生する細菌叢

と糸状菌叢の比較をおこなった。野生トマトと栽培トマトを2カ所の圃場から採取した土で生育させ、4週間後に根サンプルと土壌サンプルを回収した。ライブラリーを作製しシーケンスを行った結果、ほぼ全てのサンプルから十分なシーケンスリード数を取得することができた。データ解析の結果、細菌叢の場合、野生トマトおよび栽培トマトに共通して、土壌サンプルと根サンプルの違いが最も顕著に現れ、次いで土壌のサンプリング地点による違いが顕著に現れた。遺伝型による違いは、前者の2つほど顕著ではなかったが、有意な違いが検出された。一方で、糸状菌叢の場合では、土壌のサンプリング地点による違いが最も顕著に現れ、その次に土壌サンプルと根サンプルの違いが見られることがわかった。さらに詳細なデータ解析は現在進行中である。

### (3) イオノーム解析

作物の根圏に共生する微生物叢は、作物の栄養吸収にも影響する可能性がある。そこで、圃場土で生育させた野生トマトと栽培トマトの地上部サンプルを用いてイオノーム解析を行った。その結果、いくつかのイオンの蓄積量が品種間で異なっていたが、蓄積量の異なるイオンの種類は土壌の由来ごとに異なっていた。

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 0件）

1. 発表者名 橋本将典・藤本優・阿部淳・根本圭介
2. 発表標題 トマト栽培種および野生種における根圏微生物叢の比較解析
3. 学会等名 日本作物学会第249回講演会
4. 発表年 2020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	藤本 優  (Fujimoto Masaru)  (60554475)	東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・准教授    (12601)	

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
---------	---------