

平成 30 年度 プロジェクト研究費研究実績報告書

令和元年 5 月 16 日

代表者 徳野 裕子

研究課題名	窒素固定菌における農産物の栄養素変化に関する基礎的研究
研究期間	平成 30 年 6 月 1 日 ~ 令和 2 年 3 月 31 日
共同研究者	長尾 昭彦
1. 今年度の研究概要	
<p>【研究の背景及び目的】</p> <p>最近の異常な気象状況などは地球温暖化が原因とも言われる。このような異常気象は農産物の生産減少に直結する。細菌の世界では、健康な腸内細菌を探す研究が近年盛んである。しかし、細菌学者 Dr,Blaser は、地球温暖化の影響が健康維持する細菌を消滅させていると警告する。窒素循環の異変も含まれる。農産物生産には、窒素は必要不可欠であるが、過剰窒素は硝酸態窒素のように体内には必要ではない物質を農産物の中につくる。窒素循環には窒素固定菌の存在がある。しかし、特定の窒素固定菌を測定することはほとんど行われていない。今回、特定の窒素固定菌を同定する培地を筆者らは開発することができた。この培地の信頼性・妥当性の検討を行い、窒素固定菌の中でも <i>Pantoea</i> 属菌を測定し、土壌中の窒素固定菌の存在と、農産物における栄養素の変化についての検討することを目的とする。</p> <p>【研究計画・方法】</p> <p>①土壌中の窒素固定菌と農産物の測定。②窒素固定菌が見つかった場合、PCR にか、シーケンス分析・解析を行う。③遺伝子レベルでの分類を行う。④生産者からの農産物の生産方法をインタビューする。⑤成分分析は、窒素が関連する葉酸を液体クロマトグラフィーを使用し、測定を行う。⑥土壌中の細菌数と農産物の細菌数、および葉酸の値から窒素固定菌が農産物に栄養学的にどのような影響を与えているか検討する。その際、生産者の方からインタビューを行い、農法との関連性を検討する。</p>	
2. 研究の成果	
<p>土壌や植物中に存在する <i>Pantoea</i> 属菌を分離するためのスクリーニング培地として、新しい培地を開発することに成功した。本培地は、アミノ酸であるリジン、オルニチン及びアルギニンと、糖類であるマンニトールが含まれる (LOMAC 培地)。 <i>Pantoea</i> 属菌は、以上のアミノ酸を分解しないため、培地のアルカリ化は起こらず、マンニトールを分化し酸を生成するため、培地 pH が産生によることで pH 指示薬により黄色いコロニーを形成させることができた。しかしながら、この黄色いコロニーがすべて <i>Pantoea</i> 属菌であるとは限らず、その後共同研究者側で Api20E による測定を行い、分類する方法を検討した。その結果、LOMAC 培地の菌をさらに培養するために SCD 培地を使用し、その菌を遺伝子解析することで、 <i>Pantoea</i> 属菌のさらなる詳細な分類を行うことができた。その結果、24 土壌サンプル、19 植物サンプルから、 91 個の黄色いコロニーを抽出することができ、その内 81 個が <i>Pantoea</i> 属菌として同定することができた。その種類は、さらに詳細に分かれていることも分かり、16s rRNA での分類で、 <i>Pantoea agglomerans</i>, <i>P.vagans</i>, <i>P.ananatis</i>, <i>P.deleyi</i> が、日本のフィールドに存在することが分かった。現在、さらに多くのサンプル分析を行っている状況である。平成 30 年度は、農産物の分析を行うことができなかったため、来年度の課題である。</p>	

3. 研究成果の公表実績・予定（年月日、方法）

Tatsuya Kuranishi, Jun-ichiro Sekiguchi, Izumi Yanagisawa, Makoto Akiwa, Yuko Tokuno, Development of a New Semi-Selective Lysine-Ornithine-Mannitol-Arginine-Charcoal Medium for the Isolation of Pantoea Species from Environmental Sources in Japan, Microbes and Environments, 2019

記載されているサイト：https://www.jstage.ist.go.jp/browse/jsme2/advpub/0/_contents

2019 年 6 月末 M&E vol.34 No.2 に掲載される予定