

Pseudomonas 属細菌が産生する生育抑制物質

1. 試験のねらい

胚軸切断捕捉法により分離された *Pseudomonas* 属細菌である 2865 菌株は、トマトに対して生育抑制効果を示したため、植物の生育抑制技術に応用できれば、農業生産上有用であると考えられる。しかし、開放系においては生育抑制が認められなかったため、生育抑制技術確立の資とするため、作用機作について検討した。

2. 試験方法

供試菌株：2865、供試材料：トマト；桃太郎、レタス；ハイルック

試験Ⅰ：細菌接種によるトマトの生育反応

表面殺菌したトマト種子を 1/3 MS 寒天培地に播種し、胚軸切断接種法を用いて閉鎖系で供試菌株を接種した後、1/3 MS 寒天培地に挿木した。各区 3 個体供試し、15℃で 60 日間培養後、草丈、根長、地上部生体重及び根部生体重を調査した。

試験Ⅱ：トマトを培養した培地からのアセトン抽出物に対するレタスの生育反応

供試菌株を胚軸切断接種法を用いて閉鎖系でトマトに接種し、1/3 MS 寒天培地に挿木して 15℃で 45 日間培養後、培地をアセトンで抽出・濃縮し、100℃ 10 分間オートクレーブ滅菌した液を、ろ紙を敷いた滅菌シャーレに滅菌水とともに加えた。そこに、表面殺菌したレタスを各シャーレ 20 粒ずつ 3 反復播種し、20℃ 7 日間培養後、根長、草丈及び生体重を調査した。

試験Ⅲ：2865 菌株を培養した平板培地からのアセトン抽出物に対するレタスの生育反応

各供試培地をシャーレに約 25ml ずつ分注し、2865 菌株を 7 日間室温で培養した後、培地をアセトンで抽出・濃縮し、100℃ 10 分間オートクレーブ滅菌した液を、ろ紙を敷いた滅菌シャーレに滅菌水とともに加えた。そこに、表面殺菌したレタスを各シャーレ 10 粒ずつ播種し、後に根長、草丈及び生体重を調査した。供試培地は① 1/3 MS 寒天培地及び NA 培地、② NA 培地及び 3% ショ糖添加 NA 培地を用いた。また、①は各区 3 反復、②は 2 反復で試験した。

3. 試験結果および考察

試験Ⅰ：2865 菌株を接種した区は無接種区と比較し、草丈、根長、地上部重及び根重の全ての項目において、生育抑制効果が認められた（表-1）。特に根の生育抑制が著しく、培地中に伸長した根は観察されなかった。これらの結果から、培地中に何らかの生育抑制物質が存在する可能性が示唆された。

試験Ⅱ：2865 菌株区は無接種区及び水区と比較して、レタスの草丈及び生体重は同等の生育を示したが、根長が 1/3 程度に抑制された（表-2）。この結果から、培地中に生育抑制物質が存在し、アセトンにより抽出できること、及び本物質は特に根の生育を抑制することが明らかとなった。

試験Ⅲ：① 2865 培養 1/3 MS 区は 1/3 MS 区及び水区と比較して、レタスの生育抑制効果が認められた。また、2865 培養 NA 区では生育抑制効果は認められなかった（表-3）。これらの結果から、2865 菌株は細菌単独で生育抑制物質を産生すること、及び 1/3 MS 培地中の何らかの成分が物質産生に関与していることが明らかとなった。

② 2865 培養 SacNA 区は、他の区と比較して、明らかな生育抑制効果が認められた（表-4）。この結果から、生育抑制物質の産生にはショ糖が必要であることが明らかとなった。

4. 成果の要約

胚軸切断捕捉法によりトマト組織内から分離された *Pseudomonas* 属細菌 2865 菌株は、閉鎖系でトマト及びレタスの生育を抑制した。その作用機作として、2865 菌株が単独で生育抑制物質を産生し、その物質は培地中からアセトンで抽出できること、及び物質の産生にはショ糖が必要であることが明らかとなった。

(担当者 生物工学部 生井 潔)

表-1 トマト胚軸切断苗の生育反応

処理区	草丈(cm)	根長(cm)	地上部重(g)	根重(g)
2865接種	2.2	3.0	0.29	0.15
無接種	6.2	13.3	1.66	0.79

表-2 トマトを培養した培地からの抽出物に対するレタスの生育反応

処理区	根長(mm)	草丈(mm)	生体重(mg)
水	37.7	7.8	9.0
無接種	37.4	8.3	10.3
2865	12.4	9.1	9.2

表-3 各培地抽出物に対するレタスの生育反応

処理区	根長(mm)	草丈(mm)	生体重(mg)
水	31.2	9.1	8.7
1/3MS	16.4	11.1	8.9
2865培養1/3MS	5.0	6.5	4.8
NA	30.1	8.8	6.4
2865培養NA	24.6	10.3	9.6

表-4 各培地抽出物に対するレタスの生育反応

処理区	根長(mm)	地上部長(mm)	生体重(mg)
水	38.9	9.3	10.0
NA	34.3	11.4	11.1
2865培養NA	43.3	10.6	11.9
SacNA*	47.8	17.7	18.8
2865培養SacNA*	不発根	6.6	4.0

※SacNA：3%ショ糖添加NA培地