

## 作付履歴の異なる畑土壌におけるニンジン初期生育とシアン生成能を持つ 蛍光性シュードモナス細菌の分離

永原彰子・橋本知義 (九州沖縄農業研究センター)

Shoko Nagahara and Tomoyoshi Hashimoto :  
Effect of the Crop Rotations on Carrot Early Growth and Isolation of Fluorescence  
and Cyanide-Producing *Pseudomonas*

植物の生育は根圏に生育する様々な微生物との相互作用によって影響を受けることが知られている。PGPR (Plant-growth promoting rhizobacteria) と定義される細菌群は、1) 植物の栄養摂取の促進、2) 毒性を有する鉄イオンの軽減、3) 病原菌との競合、4) SAR (systematic acquired resistance) の誘導などにより植物の生育を促進することが報告されている<sup>2,4</sup>。一方、DRB (deleterious rhizobacteria) は植物に対して有害な代謝産物、例えば植物ホルモン、植物毒素およびシアン化合物などを生産し、植物の生育阻害効果を引き起こすと報告されている<sup>3</sup>。このように土壌中に生育する微生物相を理解し、土壌生態系の本来獲得している能力を最大限に利用することは、化学農薬使用の軽減につながる事が期待される。

シアン化合物は様々な微生物が生産する二次代謝産物で、シトクロムオキシダーゼが関与する ATP 合成を阻害する<sup>3</sup>。このような根圏微生物の生産するシアン化合物が作物の生育に影響を及ぼしている可能性が北海道道東の畑土壌で認められている<sup>3</sup>。そこで、本実験では作付履歴の異なる畑土壌がニンジンの初期生育に及ぼす影響をポット栽培試験により検討した。さらにシアン化合物の生成能をもつ根圏細菌の検出、同定を行うことにより、微生物が及ぼすニンジンの初期生育への影響を明らかにすることを目的とした。

### 1. 材料および方法

#### 1) ニンジンの初期生育に及ぼす影響

作付履歴の異なる3種類の畑土壌(オオムギ後裸地、オオムギ後トウモロコシ、ニンジン後裸地、九州研・西合志圃場)を用いてポット栽培を行った。供試植物としてニンジン(品種キャロシー)を用い、インキュベーター内で20℃、12時間明条件で初期生育を調査した。調査項目として、第1葉から第3葉生育と、茎の伸長度合を3日おきに計測し、3反復の結果を統計処理した。

#### 2) 土壌細菌の分離および16SrDNA配列の決定

蛍光性細菌の分離にはP-1培地を用い、分離された菌株中からピクリン酸呈色試験によってシアン生成能を持つ菌株を選抜した。得られたシアン生成能を持つ菌株の16SrDNAの塩基配列を決定し、BLASTによる同源性検索により簡易同定を行った。

### 2. 結果および考察

圃場レベルでの試験の結果では、前作がトウモロコシの場合、ニンジンの初期生育と収量に有意な影響があることが既に報告されている<sup>1</sup>。今回、ポット栽培でオオムギ後裸地の畑土壌において、ニンジンの初期生育に多少の生育促進効果が認められたが有意な差は得られなかった。また、圃場レベルで生育に差が認められたオオムギ後トウモロコシの土壌においても有意な差は得られなかった。以上のことから、ニンジンの初期生育には圃場レベルでの何らかの要因が関与している可能性があると考えられ、ニンジン初期生育の調査にはポット試験は不適であることが示唆された。しかしながら、オオムギ後トウモロコシの土壌から、他の土壌と比較して多くの蛍光性細菌、およびシアン生成細菌が分離されており(第1表)、この結果は、圃場レベルでの結果と対応している。そこで、これら土壌から分離された細菌についてその特性を明らかにする必要があると考えられる。

まずシアン生成能が検出された200菌株のうち最もシアン生成能が高い9株について、16SrDNA解析により簡易同定を行った。その結果オオムギ後裸地の土壌より *Pantoea ananatis* (同源性99%)、*Bacillus sphaericus* (99%)、*Rhizobium* sp. (97%)、*Brevibacillus* sp. (98%)、ニンジン後裸地の土壌より *Delftia* sp. (99%)、オオムギ後トウモロコシの土壌より *Pseudomonas* sp. (99%)、*Bacillus* sp. (99%)、*Bacillus sphaericus* (99%) と高い同源性が認められた。

今後、ポット試験で分離されたシアン生成をもつ細菌、特に圃場レベルでニンジン初期生育に影響が認められているオオムギ後トウモロコシの土壌より分離された菌株と、ニンジンの初期生育への影響を検討する予定である。

### 引用文献

- 1) 橋本知義：土と微生物 48, 11-16, 1996.
- 2) 本間善久：土と微生物 41, 7-15, 1993.
- 3) KNOWLES, C.J. *Bacteriol. Rev.* 40, 652-680, 1976.
- 4) TON, J., VAN PELT, J.A., VAN LOON, L.C. and PIETERSE, C.M. *Mol Plant Microbe Interact.* 15, 27-34, 2002.

第1表 蛍光性シュードモナスおよびシアン生成細菌の分離

分離細菌	分離土壌					
	オオムギ後 トウモロコシ1	オオムギ後 裸地1	ニンジン後 裸地1	オオムギ後 トウモロコシ2	オオムギ後 裸地2	ニンジン後 裸地2
蛍光性 シュードモナス	8.3±2.9 <sup>1)</sup>	13.3±9.3	6.7±4.0	21.3±15.3	7.0±6.1	10.7±5.7
シアン生成細菌	3.0±1.7	3.0±3.0	0.3±0.6	2.7±3.0	0.3±0.6	1.3±1.5

注) <sup>1)</sup> 3回のポット試験を行った土壌よりそれぞれ分離を行い、その分離菌株数の平均と標準偏差値を示す (cfu/g 乾土)。