



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Studies on the Mechanism of Biological Control
of Bacterial Wilt Disease of Tomato by
Pseudomonas fluorescens PfG32

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Karden, Mulya メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2403

氏名（国籍）	Karden Mulya（インドネシア共和国）
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	農博甲第62号
学位授与年月日	平成8年3月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物環境科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学位論文題目	Studies on the Mechanism of Biological Control of Bacterial Wilt Disease of Tomato by <i>Pseudomonas fluorescens</i> PfG32
審査委員	主査 静岡大学教授 露無慎二 副査 岐阜大学教授 百町満朗 副査 信州大学教授 俣野敏子 副査 静岡大学助教授 瀧川雄一 副査 静岡大学教授 西垣定治郎

論文の内容の要旨

トマト青枯病を防除するために拮抗微生物を利用した生物防除法が注目されている。そこで、Mulya氏は、これらの拮抗微生物から、本病の病原細菌 *Pseudomonas solanacearum* に対して特に強い抗菌力を持つ *Pseudomonas fluorescens* PfG32株を選び、まず、本病の生物防除のための有効性について調べている。即ち、トマトの根部を移植直前に本拮抗細菌懸濁液に浸漬処理することにより、本病による被害を有効に軽減しうることを見いだしている。次に、この防除機構を明らかにするため、トランスポゾン (Tn5)を用いて抗菌物質及びシデロフォアの各生産欠損変異株を分離し、抗菌物質生産性の変異が特に発病抑制効果の低下につながることを指摘している。このことから、抗生物質生産が本菌の生物防除の重要な要因となっていると判断している。しかし、この変異株が防除能力を完全に失わなかったことに着目し、抗菌物質以外の要因も生物防除のためには必要であると考え、これらの要因の探索にも及んでいる。まず、*P. fluorescens* PfG32株がトマト根圏に定着する事実に注目し、本菌が植物に全身抵抗性を誘導しているのではないかと考えた。種々植物病原細菌が非宿主植物に抵抗反応を誘導する際、25 kb程の領域にわたる *hrp* 遺伝子群を必要とすることが報告されていることに着目し、*P. syringae*グループの *hrp*

遺伝子群をプローブとして、ハイブリダイゼーションによってPfG32株の全DNAにこれらの相同領域が存在するかについて調べている。その結果、*hrp* 遺伝子群の一部と高い相同性を示す領域が存在する結果を得たので、これらの遺伝子が機能している可能性を示した。次に、PfG32株がタバコ、インゲンの植物体内で増殖することを確認した後、植物の抵抗性反応で中心的役割を果たすフェニルアラニンアンモニアライエース(PAL)の活性を調べ、確かに、本酵素の比活性が上昇することも確認している。これらの結果より、PfG32株が植物に定着することにより抵抗性を誘導し、他の植物病原細菌の発病を抑える可能性が示唆された。この仮説を確かめるため、これらの植物にPfG32株を前接種した後、タバコ及びインゲンに非親和性或いは親和性関係にある植物病原細菌 *P.s. pv. glycinea* や *P. solanacearum* を接種し、これらの病原細菌の植物体内の増殖を調べている。その結果、PfG32株の前接種によって、これらの病原細菌の植物体内の増殖が抑えられることを見いだしている。これらの結果より、*P. fluorescens* PfG32株の青枯病発病抑制効果は、抗生物質産生することの他に、本菌が植物体内で増殖する能力を持ち、この増殖にともない植物に抵抗性が誘導されることにも依存していることを明らかにしている。

審 査 結 果 の 要 旨

トマトの重要病害であるトマト青枯病を防除するために拮抗微生物を利用した生物防除法が注目されている。そこで、Mulya氏は、これらの拮抗微生物から、本病の病原細菌 *Pseudomonas solanacearum* に対して特に強い抗菌力を持つ *Pseudomonas fluorescens* PfG32株を選び、まず、本病の生物防除のための有効性について調べている。その結果、トマトの根部を移植直前に本拮抗細菌懸濁液に浸漬処理することにより、本病による被害を有効に軽減しうることを確認している。次に、この防除機構を明らかにするため、トランスポゾン (Tn5) を用いて抗菌物質及び、防除機構として考えられたシデロフォアの各生産欠損変異株を分離し、抗菌物質生産性の変異が発病抑制効果の低下につながることを指摘している。この結果から、抗生物質生産が本菌の生物防除の重要な要因となっていると判断している。さらに、これらの変異株の防除能力を完全に失わなかったことに着目し、これら以外の要因も生物防除のためには必要であると考え、本論文では、これらの要因の探索にも及んでいく。まず、申請者は、*P. fluorescens* PfG32株がトマト根圏に定着する事実に注目し、本菌が植物に全身抵抗性を誘導しているのではないかと考えた。種々植物病原細菌が非宿主植物に抵抗反応を誘導する際、25 kb程の領域に一群となって存在する *hrp* 遺伝子群を必要とすることが報告されているので、*P. syringae* グループの *hrp* 遺伝子群をプローブとして、ハイブリダイゼーションによってPfG32株の全DNAにこれらの相同領域が存在するかについて調べている。*hrp* 遺伝子群の一部と高い相同性を示す結果を得たので、これらの遺伝子が機能している可能性を示した。

そこで、PfG32株をタバコ、インゲンの植物体内で増殖することを確認した後、植物の抵抗性反応で中心的役割を果たすフェニルアラニンアンモニアライエース(PAL)の活性を調べ、確かに、PALの比活性が上昇することも確認している。これらの結果より、PfG32株が植物に抵抗性を誘導し、他の植物病原細菌の発病を抑える可能性が示唆されたので、実際に、これらの植物にPfG32株を前接種した後、タバコ及びインゲンに非親和性或いは親和性関係にある*P.s. pv. glycinea*や*P. solanacearum*を接種し、これらの病原細菌の植物体内の増殖を調べている。その結果、PfG32株の前接種によって、これらの病原細菌の植物体内の増殖を抑えることを見いだしている。これらの結果より、*P. fluorescens* PfG32株の青枯病発病抑制効果は、抗生物質、シデロフォアの他に、本菌が植物体内で増殖し、植物に抵抗性を誘導することにも依存していることを明らかにしている。

以上のごとく、本論文はよく計画され、得られた結果について慎重に考察した上で実験が進められていると判断された。得られた結果は、新事実であり、本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものと、審査委員全員一致で認めた。