

根圏細菌 *Pseudomonas putida* から得られた細胞凝集変異株 CI-1 の特性

さかい まさお かわぐち あきら とみなが ふみこ かなざわ しんじろう
 境 雅夫・[○]川口 章・富永文子・金澤晋二郎
 九州大学大学院農学研究院土壌微生物学研究室

【目的】

これまで、植物生育促進根圏細菌として知られる蛍光性シュードモナスの植物根圏への定着に及ぼす土壌環境の影響を調べた。その結果、過剰な施肥による土壌への塩類集積、なかでも Ca の集積は、本菌の根圏定着を阻害すること、このような塩類集積土壌には相対的に Ca 耐性をもつ菌株が多いことを明らかにしている。現在、このような塩類集積環境において根圏定着に関与する特性を明らかにするため、塩類集積土壌の根圏から分離した Ca 耐性 *Pseudomonas putida* を用いて数種の変異株を作出して解析を進めている。その一つである変異株 CI-1 は Ca^{2+} などの 2 価カチオン存在下で細胞同士が接着した凝集体を形成する変異株である。 Ca^{2+} は、CI-1 の増殖にはほとんど影響しないが、凝集により菌体の自由な運動を阻害して CI-1 の走化性を著しく阻害する。

本研究では、この変異株 CI-1 の Ca^{2+} による凝集体形成の要因を調べ、さらにこの性質が土壌での根圏定着にどのような影響を及ぼすのかを明らかにした。

【方法及び結果】

1. CI-1 の細胞表面の特性

CI-1 の 2 価カチオンによる凝集体形成は、細胞表面の性質が野生株と異なることに起因すると予想された。そこで、表面の物理化学的性質である、ゼータ電位、疎水性について比較を行った。ゼータ電位を顕微鏡電気泳動法により求めた結果、CI-1 の表面は野生株の表面に比べて負荷電が大きい(野生株: -25.6mV, CI-1: -38.9mV)ことがわかった。疎水性を MATH (Microbial Adhesion To Hydrocarbon) assay 法を用いて測定した結果、CI-1 表面は野生株の表面に比べ、より親水的であった。このような細胞表面の違いが凝集体形成の要因になることが推察された。

2. 細胞凝集変異株 CI-1 の根圏定着

CI-1 が Ca^{2+} の存在下で凝集体を形成し、自由な運動が抑制されることは植物根圏に定着する過程において不利な条件になると考えられる。そこで野生株、CI-1 をそれぞれ種子に接種し、ハウレンソウ根圏への定着能を評価した。その結果、野生株は根の伸長に伴って移動し、根全体で増殖していたが、CI-1 はほとんど移動せず根基部でのみ増殖が確認された。また、野生株と CI-1 を 1:1 で土壌に接種した場合は、野生株のみが根圏で増殖していた。すなわち、CI-1 は野生株に比べて根圏定着能力が著しく低下していることが明らかとなった。

3. CI-1 の土壌中での細胞凝集

CI-1 の根圏定着能力の低下が土壌中における細胞凝集によることを確認するため、野生株及び CI-1 を GFP で標識し、土壌中での存在様式の観察を蛍光顕微鏡により行った。その結果、CI-1 はやはり土壌中でも 2 価カチオンの影響を受けて凝集体を形成していた。

以上の結果から、CI-1 が 2 価カチオンにより凝集体を形成することは、塩類集積土壌での根圏定着において非常に不利な特性であることが明らかとなった。