

熱帯域に分布するパイオニア植物 *Xyris complanata* の種子発芽および生育を促進する微生物の生態化学的研究

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 羽根 匡毅

1. 背景・目的

攪乱された熱帯酸性土壌域に広く分布するパイオニア植物 *Xyris complanata* は、滅菌処理した熱帯泥炭土壌で発芽しても、土壌中に大量に含まれるフミン質により根を十分に伸ばすことができず、最終的には枯死してしまう。ところが、現地未滅菌土壌懸濁液を接種すると、*X. complanata* 芽生えは根の伸長が強く促進され、健全に成長することが明らかになっている。

現地土壌における健全な生育に関わる微生物として、これまでに発芽促進真菌 *Penicillium rolsii* Y-1 株と植物生育促進細菌 (PGPR) の CK-PC1 株が分離されているが、その作用機構については明らかになっていない。本研究ではこの現象が CK-PC1 株のオーキシン様活性化化合物産生によると推測して、その活性物質の探索と作用機序の解明を試みた。

2. 方法および結果

まず、16S rRNA 遺伝子配列解析により CK-PC1 株の同定を試みたところ、CK-PC1 株は病原性を持たない *Paraburkholderia* 属細菌に分類されることが明らかになった。次に CK-PC1 株の *X. complanata* 生育促進活性評価を行った結果、発芽促進真菌と CK-PC1 株を共接種した試験区で、根の伸長とそれに伴う地上部の成長が強く促進されることが示された。

CK-PC1 株の主要な二次代謝産物である抗菌活性物質 phenazine-1-carboxylic acid (PCA) の構造が天然オーキシンの Indol-3-acetic acid (IAA) と類似していることから、PCA がオーキシン様活性を有していることが推測された。そこで培養液中から PCA を単離し、ヤエナリ (*Vigna radiata*) 種子および芽生えを用いて古典的オーキシン活性検定に供したところ、10 μ M で IAA より弱いながらもオーキシン活性を示した。この結果を踏まえ、5 日間栽培したヤエナリの上胚軸および主根におけるオーキシン早期応答遺伝子発現量の定量解析を qRT-PCR 法で行った結果、PCA は、根で特異的にオーキシン応答遺伝子の発現を誘導し、特に *IAA20* では対照区の約 50 倍の発現上昇が確認できた。

この応答遺伝子発現解析結果は、PCA がオーキシニアゴニストとして作用した可能性も考えられたが、間接的な作用、すなわち PCA がオーキシンの代謝を阻害することにより、IAA 内生量が増加することで生じると考え、IAA 酸化酵素として汎用されるホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) 活性阻害試験を行った。その結果、PCA は 500 μ M レベルで HRP による IAA の分解を明らかに阻害することが示された。一方で、36 時間 PCA 処理して栽培したヤエナリ幼根中の IAA 内生量を LC-MS/MS により測定したところ、10 μ M PCA 処理による IAA 内生量の増加は確認できなかった。

3. 考察および展望

Paraburkholderia sp. CK-PC1 株が産生する PCA は 10 μ M レベルでヤエナリ芽生え根の表現型および、遺伝子発現解析においてオーキシン活性を示し、in vitro 試験で IAA 代謝酵素の阻害活性を有することが明らかになった。

この結果は、これまで抗菌活性物質と考えられてきた PCA の新たな生理活性機能を示唆している。

今後、異なる生育段階の植物を用いた IAA 内生量や IAA 代謝産物量の測定を行うことにより、PCA の作用機序が明らかになると期待される。

