

培養液に添加されたフェノール物質分解菌が水耕キュウリの栄養生長に及ぼす効果

浅尾俊樹・谷口 尚・巢山弘介・山本廣基・井藤和人・富田浩平・谷口久美子・細木高志

島根大学生物資源科学部 690-1102 松江市上本庄町

Reversibility of the Action of 2, 4-dichlorobenzoic acid, a Synthetic Herbicide, on Cucumber Seedlings by Strains of Soil Microorganisms

Toshiki Asao, Hisashi Taniguchi, Kosuke Suyama, Hiroki Yamamoto, Kazuhito Itoh, Kouhei Tomita,
Kumiko Taniguchi and Takashi Hosoki

Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Kamihonjo, Matsue 690-1102

園芸学会雑誌 第70巻 第3号 別刷

2001年5月15日

Reprinted from Journal of the Japanese Society for Horticultural Science
Vol. 70. No. 3, p. 393-395. 2001

培養液に添加されたフェノール物質分解菌が水耕キュウリの栄養生長に及ぼす効果

浅尾俊樹・谷口 尚・巢山弘介・山本廣基・井藤和人・富田浩平・谷口久美子・細木高志

島根大学生物資源科学部 690-1102 松江市上本庄町

Reversibility of the Action of 2, 4-dichlorobenzoic acid, a Synthetic Herbicide, on Cucumber Seedlings by Strains of Soil Microorganisms

Toshiki Asao, Hisashi Taniguchi, Kosuke Suyama, Hiroki Yamamoto, Kazuhito Itoh, Kouhei Tomita, Kumiko Taniguchi and Takashi Hosoki

Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Kamihonjo, Matsue 690-1102

Summary

The herbicide, 2,4-dichlorobenzoic acid (DCLBA), was administered through the nutrient solution to six cucumber seedlings grown hydroponically. DCLBA, which is also a synthetic auxin, stunts cucumber plants at a low concentration but kills at a higher one. Roots of six comparable seedlings, treated with DCLBA, were exposed to two strains of microorganisms, TS-22 and TS-29, and Rhizoplane AC1, which were isolated from soils and cucumber roots.

The control cucumber seedlings, unexposed to DCLBA and the different strains of microorganisms grew vigorously, whereas those exposed to DCLBA were stunted. The stature of seedlings, exposed simultaneously to DCLBA and TS-22, TS-29, and Rhizoplane AC1, was nearly that of the control, but their fresh and dry weights were approximately 2/3 and 1/2, respectively, of the untreated control seedlings.

These results demonstrate that there are microorganisms in the soil and on cucumber roots which, if added to the nutrient solution, can catabolize DCLBA.

Key Words: 2,4-dichlorobenzoic acid, herbicide, hydroponics, microorganisms, synthetic auxin.

緒 言

筆者ら(1998)は、水耕キュウリの培養液を非交換で栽培した場合、株当たりの収穫果実数が減少、すなわち自家中毒が起こるが、この現象は培養液に活性炭を添加することにより回復することを報告した。また、添加した活性炭から生育抑制物質である 2, 4-dichlorobenzoic acid (DCLBA) が同定され、培養液に DCLBA を添加すると栄養生長および収穫果実数の減少が引き起こされることを明らかにした(浅尾ら, 1999a)。しかし、水耕キュウリの自家中毒を回避するために培養液に活性炭を添加する方法は、コストや回収後の処理の点で課題が残る。

一方、微生物の中には化学物質である農薬を分解する微生物が多く知られており、これらの中にはフェノール物質を分解する微生物も含まれている(片山・山本, 1999)。このフェノール物質分解微生物を培養液中に添加することによって、水耕キュウリの根から出されたフェ

ノール物質のひとつである DCLBA が分解されて、キュウリの自家中毒の回避につながる可能性が考えられた。

そこで、本実験では、培養液への DCLBA 分解菌の添加が水耕キュウリの栄養生長に及ぼす効果について検討した。

材料および方法

1. DCLBA 分解菌の単離および懸濁液の作成

愛知県海部郡の畑土壌、島根大学内圃場の水田土壌および島根大学のガラス室内で栽培した水耕キュウリの根を採取し、DCLBA 分解菌単離の供試材料とした。

園試処方 75% 濃度の標準液 ($EC2.0dS \cdot m^{-1}$ 以下、基準液とする) に DCLBA を $53 \mu mol \cdot liter^{-1}$ 添加し、pH 7 に調製後、三角フラスコ (容量 100 ml) に 45 ml ずつ分注し、オートクレーブ ($121^{\circ}C$, 20 分間) で滅菌後、供試土壌を 5 g ずつフラスコ内の培養液に添加し、 $25^{\circ}C$ の暗所で静置培養した。培養開始 3 週間後、土壌懸濁液中の DCLBA を高速液体クロマトグラフ (検出波長 205 nm, Shimadzu SPD-10A) で定量した。DCLBA 分解がみら

れた土壌懸濁液から、10倍希釈を5回繰り返した後、 $53 \mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ DCLBA添加したシャーレの寒天 ($14 \text{g} \cdot \text{liter}^{-1}$) 培地に希釈液を 0.5ml ずつ滴下し、 25°C の暗所で培養した。形成されたコロニーの中で、色や形態が異なるもの10系統をそれぞれ斜面培地に接種し、DCLBA分解能力の最も高かった2種(以下、TS-22およびTS-29)を接種源とした。

水耕キュウリの根について、約 10cm の長さに切断し、シャーレの寒天培地 (寒天 $14 \text{g} \cdot \text{liter}^{-1}$ 、他は供試土壌と同じ培地) 上に2-3本ずつのせ、 25°C の暗所で培養した。根の周りに発生した細菌のコロニーの表面を $53 \mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ DCLBA添加した培養液 30ml で洗浄した。この洗浄液を培養液とし、 25°C の暗所で3週間静置培養した。DCLBAの分解がみられた培養液を供試土壌と同じ方法で希釈し、寒天培地で培養した。形成されたコロニーの中で、色や形態が異なるものを2系統それぞれ斜面培地に接種し、DCLBA分解能の高い系統(以下、AC-1)を接種源とした。

次に、容量 500ml の三角フラスコに、 $53 \mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ DCLBAを添加した液体培地を 200ml 入れ、オートクレーブ滅菌後、土壌およびキュウリ根からスクリーニングしたDCLBA分解菌を接種し、培養9日後にDCLBA分解菌の懸濁液を作成した。

2. 培養液に添加されたDCLBA分解菌懸濁液が水耕キュウリの生育に及ぼす影響

供試品種として、根からDCLBAを滲出し、自家中毒を示した‘聖護院青長節成’を用いた(浅尾ら, 1999a)。

栽培は、島根大学生物資源科学部内の約 100m^2 のガラス温室で行った。実験は2回行い、それぞれの播種は、1999年9月6日および26日に、パーミキュライトを入れた1セル容量約 45ml の51穴セルトレイに行った。播種10日後の本葉出現期に、キュウリ苗をウレタンスポンジ(縦 23mm 、横 23mm 、高さ 27mm)4個で固定し、容量約 14liter のコンテナ(内寸、縦 38cm 、横 25cm 、深さ 15cm)に移植した。コンテナに基準培養液を 12liter 入れ、エアープンプ(送風量: $1.5 \text{liter} \cdot \text{min}^{-1}$)で通気した。栽植本数は、1コンテナ当たり6株(9月6日播種)および3株(9月26日播種)とした。処理区として、定植後3日毎にDCLBAを $21 \mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ 添加し、土壌および水耕キュウリ根から分離・培養した微生物の懸濁液を定植時に1コンテナ当たり 200ml 添加する区を設けた。9月6日播種の実験は、定植29日後に、9月26日播種の実験は定植42日後に、それぞれ実験を終了した。実験終了時の茎長、葉数、地上部の生体重および乾物重、ならびに地下部の乾物重について測定した。また、9月26日播種の実験についてのみ、培養液中のDCLBA濃度を測定した。

結果および考察

培養液中のDCLBA濃度を測定すると、9月26日播種

時の微生物添加区でDCLBA濃度の低下が認められた(第1図)。しかし、微生物無添加区では、DCLBA濃度は上昇し、培養液中に蓄積していった。

9月6日播種の実験について、茎長はDCLBA添加区で有意に減少し、対照区(菌、DCLBAいずれも無添加)と比べて約24%となった(第1表)。土壌微生物TS-22およびTS-29を添加した区では対照区とほぼ変わらず、DCLBAの影響はなくなった。葉数、地上部の生体重および乾物重は、DCLBA添加区で対照区のそれぞれ半数、約18および17%になり、土壌微生物TS-22およびTS-29添加区では対照区とほとんど変わらない値になった。地下部の乾物重は、DCLBA添加区で対照区の約27%になり、土壌微生物TS-22およびTS-29を培養液に添加すると対照区のそれぞれ約68および64%となった。

9月26日播種の実験結果も9月6日播種の実験と同様な傾向となり、水耕キュウリ根表面から分離した微生物AC1添加区でも対照区と同じ程度に回復した(第2表)。

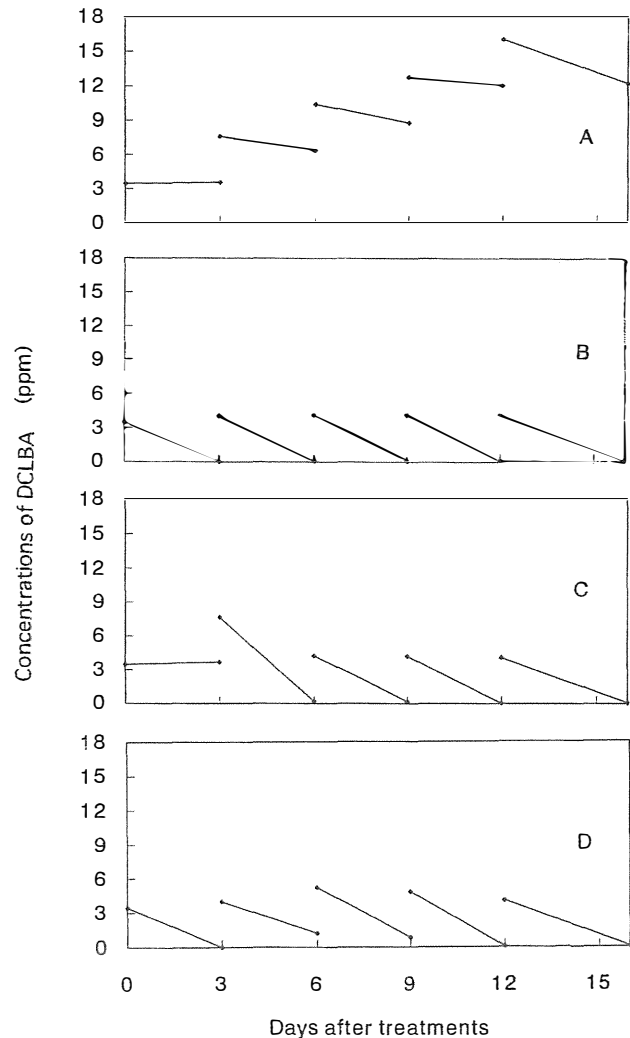


Fig. 1. Catabolism of DCLBA added to the nutrient solution at 3-day intervals beginning on 6 Nov. in the presence of no microorganism (A), TS-22 (B), TS-29 (C) and AC1 (D). Cucumber seeds were sown on 26 Sept.

Table 1. Effects of adding strains of microorganisms, TS-22 and TSS-29, to the nutrient solution on hydroponically grown cucumber seedlings treated with 2, 4-dichlorobenzoic acid (DCLBA). (Seeds sown on 6 Sept. 1999).^z

Inoculated strain	DCLBA ^x	Stem length (cm)	No. of leaves	Fresh weight of shoot (g)	Dry weight of shoot (g)	Dry weight of root (g)
— ^y	—	227.5 a ^w	16.2 a	277.7 a	15.6 a	2.2
—	+	53.5 c	7.3 b	50.8 c	2.7 b	0.6
TS-22	+	204.8 b	15.8 a	231.0 b	14.0 a	1.5
TS-29	+	231.0 a	16.0 a	260.3 ab	13.2 a	1.4

^zn=six. ^y—: untreated control. ^x+/- DCLBA.^wDifferent letters within column indicate significance at 5% level by the Tukey test.**Table 2.** Effects of adding strains of microorganisms, TS-22, TS-29 and Rhizoplane AC1 to nutrient solution on hydroponically grown cucumber seedlings treated with 2,4-dichlorobenzoic acid (DCLBA). (Seeds sown on 26 Sept. 1999).^z

Inoculated strain	DCLBA ^x	Stem length (cm)	No. of leaves	Fresh weight of shoot (g)	Dry weight of shoot (g)	Dry weight of root (g)
— ^y	—	161.7 a ^w	14.0 a	370.3 a	28.2 a	4.8
—	+	76.0 b	9.0 b	49.7 c	3.4 c	0.5
TS-22	+	158.7 a	14.0 a	242.0 b	15.6 b	2.1
TS-29	+	155.7 a	12.7 a	228.3 b	14.4 b	2.2
AC1	+	139.7 a	13.3 a	217.0 b	15.1 b	2.5

^zn=six. ^y—: untreated control. ^x+/- DCLBA.^wDifferent letters within column indicate significance at 5% level by the Tukey test.

微生物による酸化、還元や分解としては、4-クロロフェニールアセテートの酸化 (Markusら, 1984), 有機リン殺虫剤フェニトロチオンの加水分解およびニトロ基の還元 (南部, 1990) が認められている。また, van den Tweelら (1987) は, 微生物による DCLBA の脱塩素をともなった分解について報告している。本研究においても DCLBA 分解微生物が培養液中の DCLBA を分解し, キュウリの生育抑制が回避できたと考えられる。このことより, キュウリの自家中毒の回避方法として活性炭や接ぎ木 (浅尾ら, 1999b) の他に微生物の利用が考えられた。

摘 要

培養液に添加された DCLBA 分解菌がキュウリの栄養生長に及ぼす効果について検討した。

1. 土壌およびキュウリ根から単離された DCLBA 分解菌は, 培養液に添加された DCLBA を消費することができた。

2. 培養液に DCLBA を添加するとキュウリの栄養生長は抑制されたが, DCLBA 分解菌懸濁液を培養液に入れるとキュウリの生育抑制は回復した。

引用文献

浅尾俊樹・M. H. R. Pramanik・富田浩平・大場友美子・太田

勝巳・細木高志・松井佳久. 1999a. 水耕栽培キュウリの培養液から分離したフェノール物質が果実収量に及ぼす影響. 園学雑. 68: 847-853.

浅尾俊樹・清水法子・太田勝巳・細木高志. 1999b. 培養液非更新水耕キュウリの接ぎ木による収穫期の延長. 園学雑. 68: 598-602.

浅尾俊樹・梅山元正・太田勝巳・細木高志・伊藤憲弘・植田尚文. 1998. 水耕キュウリの培養液非交換による収量の減少と活性炭添加による回復. 園学雑. 67: 99-105.

片山新太・山本廣基. 1999. 農薬と微生物. 新・土の微生物 (4) 環境問題と微生物. p. 29-70. 博友社. 東京.

Markus, A., U. Klages, S. Krauss and F. Lingens. 1984. Oxidation and dehalogenation of 4-chlorophenylacetate by a two-component enzyme system from *Pseudomonas* sp. Strain CBS3. *J. Bacteriol.* 160: 618-621.

南部健二. 1990. 農薬の土壌中における挙動. 植物防疫. 44: 3-8.

van den Tweel, W. J. J., J. B. Kok and J. A. M. de Bont. 1987. Reductive dechlorination of 2, 4-dichlorobenzoate to 4-chlorobenzoate and hydrolytic dehalogenation of 4-chloro-, 4-bromo-, and 4-iodobenzoate by *Alcaligenes denitrificans* NTB-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 810-815.