

細菌とのtwo-member cultureによるケイトウ花芽誘導現象

バイオサイエンス科 バイオ研究部 3年 坂原樹

目的

2019年、バイオサイエンス科バイオ研究部3年生が行っていたケイトウを材料とした培養実験で細菌が混入した試験管で培養中のケイトウが大きくなり花芽形成する現象が確認された。私は、細菌とケイトウと一緒に培養するtwo-member cultureにおけるケイトウの成長促進現象についてクルドバクテリウム属細菌に特異的なものか、他の細菌でも同じことが起こるのかについて実験を行った。

実験1

材料
植物
タキイ種苗株式会社販売の「KFTけいとうキャスル混合（矮性ケイトウ）」

細菌
純粋分離したクルドバクテリウムsp菌、園芸高校保存の大腸菌 (*Escherichia coli*) と枯草菌 (*Bacillus subtilis*)

実験に使用した無菌の矮性ケイトウは、種子殺菌後、素寒天平板培地上に播種し、得られた実生を実験用培地を入れた試験管に移植し1週間予備培養したものを培養した。実験用培地には、ハイポネックス培地（ハイポネックス0.3% サッカロース1.0% pH5.8 寒天1.5%）とデンブ添加ハイポネックス培地（ハイポネックス0.3% デンブ3.0% pH5.8 寒天1.5%）を使用した。予備培養後、各培地にそれぞれクルドバクテリウム区、枯草菌区、大腸菌区、対照区を設定した。各細菌の接種は、シングルコロニーから1白菌耳分ずつ植菌した。植菌後、1週間ごとに草丈と葉数を8週目まで記録した。また、着蕾時期と着蕾株数を計測した

結果

表1. Two member culture 実験における使用培地および接種細菌による着蕾株数と着蕾時期の違い

使用培地区分	接種細菌区分	実験株数 (本)	着蕾株数 (本)	着蕾株の発生時期(接種後経過時間(週))				
				4	5	6	7	8
ハイポネックス培地	対照区(無接種)	10	1	0	0	0	0	1
	クルドバクテリウム区	10	0	0	0	0	0	0
	大腸菌区	10	0	0	0	0	0	0
	枯草菌区	10	1	0	1	0	0	0
デンブ ハイポネックス培地	対照区(無接種)	10	1	0	0	0	0	1
	クルドバクテリウム区	10	0	0	0	0	0	0
	大腸菌区	10	0	0	0	0	0	0
	枯草菌区	10	2	0	1	1	0	0

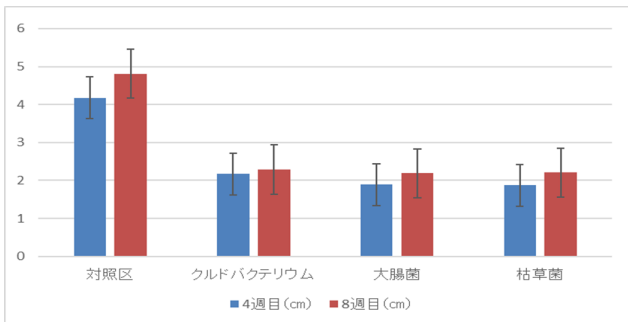


図1 Two member culture 実験培養 4 週目および 8 週目におけるハイポネックス培地での接種細菌ごとの矮性ケイトウの草丈の比較 (cm)

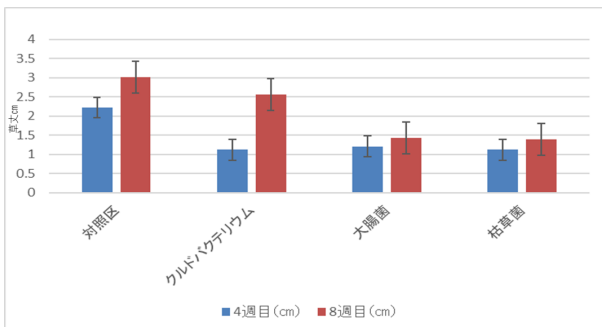


図2 Two member culture 実験培養 4 週目および 8 週目におけるデンブ添加ハイポネックス培地での接種細菌による矮性ケイトウの草丈の比較 (cm)

実験2

材料

植物

サカタのタネ販売の「けいとうジュエルボックス（とさかケイトウ）」
矮性ケイトウは実験1と同じものを使用した。

細菌

純粋分離したクルドバクテリウムsp菌、園芸高校保存株の大腸菌 (*Escherichia coli*) 枯草菌 (*Bacillus subtilis*)

実験1と同様の方法で無菌播種後、素寒天平板培地上に播種し、得られた実生を実験用培地を入れた試験管に移植し1週間予備培養したものを培養した。実験用培地には、ハイポネックス培地（ハイポネックス0.3% サッカロース1.0% pH5.8 寒天1.5%）とデンブ添加ハイポネックス培地（ハイポネックス0.3% デンブ3.0% pH5.8 寒天1.5%）を使用した。

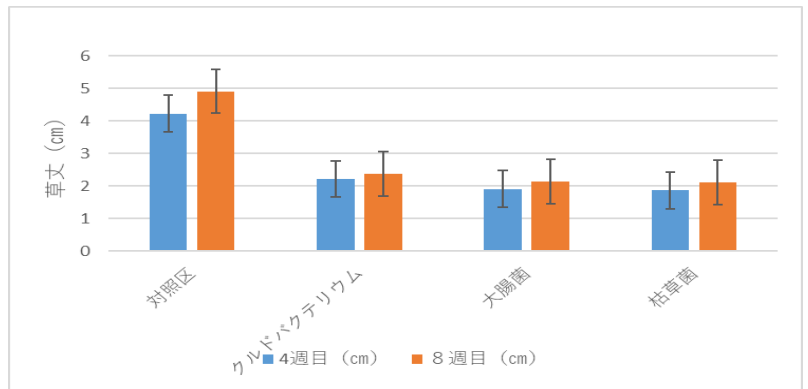
予備培養後、矮性ケイトウ、とさかケイトウそれぞれに各培地の区分にクルドバクテリウム区、枯草菌区、大腸菌区、対照区を設定した。各細菌の接種は、シングルコロニーから1白菌耳分ずつ植菌した。植菌後、1週間ごとに草丈と葉数を8週目まで記録した。また、着蕾時期と着蕾株数を計測した

結果

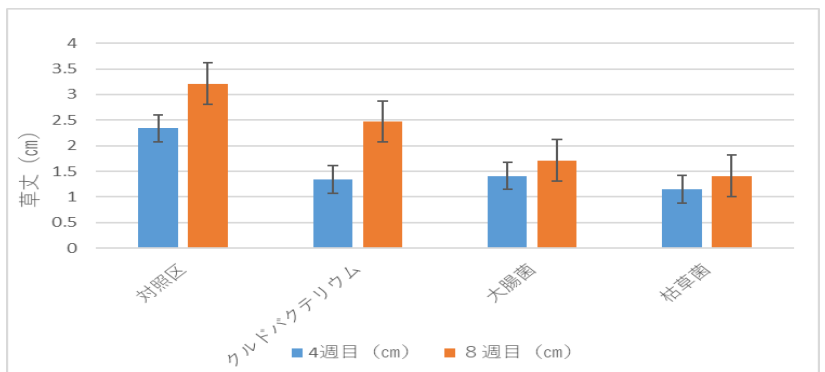
ハイポネックス区分では無菌の対照区以外に着蕾した区分が見られなかった。デンブ添加ハイポネックス区分では矮性ケイトウの区分で枯草菌の区分で対照区より早く着蕾がみられた。数においても、デンブ添加ハイポネックス区分の矮性ケイトウ枯草菌区分が対照区よりみられた。その他の区分では、着蕾が見られなかった。

使用培地区分	植物区分	接種細菌区分	実験株数 (本)	着蕾株数 (本)	着蕾株の発生時期(接種後経過時間(週))				
					4	5	6	7	8
ハイポネックス培地	矮性ケイトウ	対照区(無菌)	10	1	0	0	0	0	1
		クルドバクテリウム区	10	0	0	0	0	0	0
		大腸菌区	10	0	0	0	0	0	0
		枯草菌区	10	0	0	0	0	0	0
デンブ添加ハイポネックス培地	矮性ケイトウ	対照区(無菌)	10	2	0	0	0	1	1
		クルドバクテリウム区	10	0	0	0	0	0	0
		大腸菌区	10	0	0	0	0	0	0
		枯草菌区	10	3	0	2	1	0	0
とさかケイトウ	矮性ケイトウ	対照区(無菌)	10	1	0	0	0	0	1
		クルドバクテリウム区	10	0	0	0	0	0	0
		大腸菌区	10	0	0	0	0	0	0
		枯草菌区	10	1	0	0	1	0	0

表2 実験2における使用培地および接種細菌による着蕾株数と着蕾時期の違い。



実験2におけるハイポネックス培地の4週目と8週目の草丈



実験2におけるデンブ添加ハイポネックス培地の4週目と8週目の草丈

考察

実験1、2から2019年のクルドバクテリウム属細菌が混入した培地上および杉本の追実験における矮性系統ケイトウの成長促進と着蕾現象は、本実験では確認することができなかった。また、デンブH培地についても、ケイトウの成長促進や着蕾を促進する効果はなく、H培地よりも草丈や葉数は抑制された。一方、ケイトウの着蕾促進現象を培地に関わらず枯草菌とのtwo-member culture条件下で認めることができた。