

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	森田 智有
題 目	<p>土壌および環境から分離した細菌が生産する揮発性抗菌物質による糸状菌の生育抑制  (英題) Fungal growth inhibition by volatiles produced by bacterial isolates from soil and environments</p>
<p>近年、揮発性物質による抗菌活性を持つ微生物の生物防除剤としての利用が、農産物の生産や貯蔵、環境分野で注目されている。そこで、強い揮発性抗菌物質を生産する細菌を種々の環境試料から分離した。得られた細菌株のうち、最も強い抗菌活性を示した TM-R 株を生理学および遺伝子学的特徴から、TM-R 株を <i>Bacillus pumilus</i> と同定した。本菌が4種類の寒天培地 (nutrient, Trypto-Soya, Luria-Bertani, および TM Enterprise 培地) において生産する揮発性物質が6種類の糸状菌 (<i>Alternaria alternata</i> NBRC31188, <i>Aspergillus niger</i> NBRC33023, <i>Cladosporium cladosporioides</i> NBRC4459, <i>Curvularia lunata</i> NBRC100182, <i>Fusarium oxysporum</i> NBRC30701, および <i>Penicillium italicum</i> NBRC32032) に与える影響をシャーレ貼り合わせ試験および 12 L 容器試験において検討した。その結果、培地の種類によって抗菌活性が変化し、抗菌物質の種類・強度も変化した。GC-MS で検出された 32 物質のうち、22 物質を 3 種類のデータベース (NIST 2011, AromaOffice, および AroChemBase) により同定した。抗菌活性の起因物質を特定するために、4 種類の培地で <i>B. pumilus</i> TM-R を培養した時の <i>P. italicum</i> NBRC32032 の抑制率と各揮発性物質の相対濃度の相関関係を検定した結果、4 種の物質 (methyl isobutyl ketone, ethanol, 5-methyl-2-heptanone, および S-(-)-2-methylbutylamine) が主要な抗菌物質であると推定した。このような手法で抗菌活性の起因物質を特定したのは本研究が初めてである。</p> <p>本菌の生物防除剤としての利用に向けて、浴室のカビ汚染防止の現場実証試験およびハウスマシンのカビ汚損低減効果を検証した。本菌を含有する微生物資材を設置した浴室では未設置の浴室と比較し、糸状菌数が数ヶ月間低い値に保たれ、その効果は家庭や季節に関係しないことが確認された。また、ハウスマシン果実上での糸状菌 <i>C. cladosporioides</i> の発育を抑制することを確認した。</p> <p>本菌よりも活性の強い細菌株を取得する目的で、土壌および堆肥から細菌を多数分離した。分離株 208 株のうち 184 株 (88%) が揮発性物質を介して 3 種の被験糸状菌 (<i>A. niger</i> RR, <i>C. cladosporioides</i> SK-1, および <i>P. italicum</i> 2) のうち 1 菌種以上の発育を抑制した。<i>A. niger</i> RR は揮発性物質に抵抗的であり、逆に 116 株 (56%) により発育が促進された。16S rRNA 遺伝子配列により、10 株を <i>Arthrobacter</i> 属, <i>Bacillus</i> 属, <i>Microbacterium</i> 属, <i>Lysobacter</i> 属, <i>Flavobacterium</i> 属, または <i>Pseudomonas</i> 属のいずれかの菌種と同定した。</p> <p>以上の結果は、抗真菌性揮発性物質を生産する細菌が土壌および堆肥に広く存在し、揮発性物質が微生物間相互作用因子や土壌静菌作用因子として働いている可能性を示す。さらに、<i>Bacillus pumilus</i> TM-R が抗菌活性と抗菌スペクトルにおいて依然優れていることが示された。</p>	