OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	共生細菌を活用したウキクサ科植物の栽培効率化技術に関する研究
Author(s)	石澤, 秀紘
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76563
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　　名　（　　石澤　秀紘　　）	
論文題名	共生細菌を活用したウキクサ科植物の栽培効率化技術に関する研究

論文内容の要旨

本論文は、水質浄化や資源生産に優れた性質を持つウキクサ科植物の栽培を、植物成長促進細菌(PGPB)を適用することによって効率化する技術の確立に向け、特に環境細菌群集の存在時におけるPGPBの挙動に焦点を当てた一連の研究成果を取りまとめたものであり、緒論、全4章からなる本論および総括ならびに結論から構成されている。

緒論では、本研究の背景および目的と、論文の概略を述べている。

第一章では、環境細菌群集がウキクサ科植物の成長に及ぼす影響を、その構成種との関連において理解することを目的とし、水環境中から採取した細菌・細菌群集とコウキクサを用いた種々の共栽培試験を行った。結果として、環境細菌群集はウキクサ科植物の栽培効率に顕著な影響を及ぼす要因であることが実証された。また、環境細菌群集の構成種にはPGPBと植物成長阻害細菌(PGIB)の両方が普遍的に含まれていることを明らかにし、群集レベルの成長促進・阻害影響はこうした多数の細菌による複合的な影響によって決定されることを示した。

第二章では、PGPBのどのような性質が、他の細菌の存在下で成長促進効果を発揮するために必要であるかを明らかにするため、PGPBによるコウキクサへの付着動態に着目した検討を行った。第一章で単離されたPGPBであるH3株を、2種類のPGIBとそれぞれ競争する条件でコウキクサに接種したところ、H3株はいずれの場合も競争相手の付着密度を低減させながら自身は高い付着密度を示し、高い成長促進効果を発揮した。また、2種間の競争関係は、接種する際の比率や順序によらず一定であり、最終的には2種の付着比率が同様のものへと収束していく様子を観察した。以上のことから、他の細菌の存在下でPGPBの効果を安定して得るためには、PGPBを植物表面に高密度で付着させることが肝要であり、その付着の可否は接種方法よりも菌株自体の性質に強く依存していることが示唆された。

第三章では、H3株を実際に環境細菌群集の存在下においてコウキクサに接種する栽培試験を行い、その付着動態と成長促進効果を、共生細菌群集全体の動態と関連づけて解析した。その結果、H3株は少ない接種量においてもコウキクサ表面で一時的に優占化し、成長促進効果を発揮した一方、その付着密度は接種7日後には大きく低下してしまい、コウキクサ表面の菌叢は一定のものに収束した。この観察から、外部から導入したPGPBは一時的には成長促進効果を発揮し得るものの、ウキクサ科植物の共生細菌群集が持つ強い復元性のため、長期間にわたって効果を維持することは困難であることが示された。

第四章では、より持続的にPGPBを付着させる技術に向けた手掛かりを得るため、水圏の細菌がウキクサ科植物に付着する際に重要な役割を果たす遺伝子機能の解明を試みた。網羅的な遺伝子破壊に基づく分子生物学的手法をH3株について適用することで、本菌株によるコウキクサへの付着に寄与する遺伝子機能を数多く特定した。特に、鞭毛運動によって水中を遊泳することや、細胞外多糖、IV型繊毛のような植物に付着しやすい細胞外構造を持つことが、効率的な付着に寄与することを示した。また、初期の付着段階とその後の生育・生残には異なる遺伝子が寄与していることも示され、こうした機能に着目することで、更に付着力に優れたPGPBが獲得できるものと考えられた。

総括ならびに結論では、本研究で得られた成果を整理するとともに、その知見に基づく、ウキクサ科植物へのPGPB利用技術の開発について、将来の展望を述べた。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　石澤　秀紘　）	
論文審査担当者	(職)　氏　名 主 査　教授　池　道彦 副 査　教授　佐藤　文信 副 査　准教授　井上　大介

論文審査の結果の要旨

本論文は、水質浄化や資源生産に優れた性質を持つウキクサ科植物の栽培を、植物成長促進細菌(PGPB)を適用することによって効率化する技術の確立に向け、特に環境細菌群集の存在時における PGPB の挙動に焦点を当てた一連の研究成果を取りまとめたものであり、緒論、全 4 章からなる本論および総括ならびに結論で構成されている。

緒論では、本研究の背景として、水質浄化とバイオマス資源生産の両面で有望なウキクサ科植物の栽培効率化に向けて、PGPB の植物表面における振る舞いを、共存する他の細菌／細菌群集との関係において理解することの重要性を述べたうえで、研究の目的を明示し、論文構成の概略を述べている。

第一章では、環境細菌群集がウキクサ科植物の成長に及ぼす影響を、その構成種との関連において理解することを目的とし、水環境中から採取した細菌・細菌群集とコウキクサを用いた種々の共栽培試験を行っている。その結果として、環境細菌群集がウキクサ科植物の栽培効率に顕著な影響を及ぼす要因であることが実証している。また、環境細菌群集の構成種には PGPB と植物成長阻害細菌(PGIB)の両方が普遍的に含まれていることを見出し、群集レベルの成長促進・阻害影響はこうした多数の細菌による複合的な影響によって決定されることを明らかにしている。

第二章では、PGPB のどのような性質が、他の細菌の存在下で成長促進効果を発揮するために必要であるかを明らかにするため、PGPB によるコウキクサへの付着動態に着目した検討を行っている。第一章で単離された PGPB である *Aquitalea magnusonii* H3 株(H3 株)を、2 種類の PGIB とそれぞれ競争する条件でコウキクサに接種することにより、H3 株がいずれの場合でも競争相手の付着密度を低減させながら自身は高い付着密度を示し、高い成長促進効果を発揮することを明らかにしている。また、2 種間の競争関係は、接種する際の比率や順序によらず一定であり、最終的には 2 種の付着比率が同様のものへと収束していくことを見出している。そして、これら実験結果に基づき、他の細菌の存在下で PGPB の効果を安定して得るためには、PGPB を植物表面に高密度で付着させることが肝要であり、その付着の可否は接種方法よりも菌株自体の性質に強く依存することを示唆している。

第三章では、H3 株を実際に環境細菌群集の存在下においてコウキクサに接種する栽培試験を行い、その付着動態と成長促進効果を、共生細菌群集全体の動態と関連づけて解析している。その結果、H3 株は少ない接種量においてもコウキクサ表面で一時的に優占化し、成長促進効果を発揮するが、その付着密度は接種 7 日後には大きく低下してしまい、コウキクサ表面の菌叢が一定のものに収束することを明らかにしている。この観察から、外部から導入した PGPB は一時的には成長促進効果を発揮し得るものの、ウキクサ科植物の共生細菌群集が持つ強い復元性のため、長期間にわたって効果を維持することは困難であることを示唆している。

第四章では、より持続的に PGPB を付着させる技術に向けた手掛かりを得るため、水圏の細菌がウキクサ科植物に付着する際に重要な役割を果たす遺伝子機能の解明を試みている。網羅的な遺伝子破壊に基づく分子生物学的解析の適用により、H3 株によるコウキクサへの付着に寄与する遺伝子機能を数多く特定することに成功している。特に、鞭毛運動によって水中を遊泳することや、細胞外多糖、IV 型繊毛のような植物に付着しやすい細胞外構造を持つことが、効率的な付着に寄与することを示している。また、初期の付着段階とその後の生育・生残には異なる遺伝子が寄与し

ていることも見出し、こうした機能に着目することで、更に付着力に優れた PGPB が獲得できると示唆している。

総括ならびに結論では、以上の各章における研究成果を整理し、ウキクサ科植物の高効率栽培には、付着能力に優れる PGPB を利用することが最も重要であることを結論づけている。また、本研究の知見に基づき、合理的な PGPB 利用による植物共生細菌群集デザイン化技術の実現に向けた将来展望を述べている。

以上のように、本論文は、環境工学分野、特にウキクサ科植物の細菌群集との共生関係の解明と、その共生関係を活用したウキクサ科植物の増産技術の開発に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。