

氏名（本籍）	松岡宏明（北海道）		
学位の種類	博 士（環境学）		
学位記番号	博 甲 第 6753 号		
学位授与年月日	平成26年 2月28日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	波崎海岸に生育するコウボウムギ (<i>Carex kobomugi</i> Ohwi) と内生細菌の化学的相互作用の解明		
主査	筑波大学准教授	博士（農学）	山路 恵子
副査	筑波大学教授	農学博士	田村 憲司
副査	筑波大学教授	博士（農学）	上條 隆志
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	廣田 充

論 文 の 要 旨

貧栄養環境である波崎海岸には、非菌根性植物であるコウボウムギ (*Carex kobomugi* Ohwi) が海岸最前線部から優占している。先行研究から、土壌中ではアルカリ性環境下により P、Fe の生物利用性が制限されているにもかかわらず、コウボウムギの地上部の P 濃度が、地下茎部と根部では Fe 濃度が高いことが確認された。さらにカヤツリグサ科である本種は土壌中の P を可溶化する dauciform 根の産生が本調査地で確認されていない。また地上部の成熟葉の N/P 比から N 制限環境であることも示唆されている。一方、微生物の面では根組織内に感染している糸状菌はほとんど確認されず、根内から分離した細菌は Fe、P 非制限条件下で少数ながら不溶態 P 可溶化能と siderophore 産生能を有することが明らかにされている。以上のことから、本研究では、P、N、及び Fe の制限環境下でコウボウムギのこれら無機栄養元素の効率的な吸収に対して根に内生する細菌が関与していると仮定して、コウボウムギと内生細菌間の相対的な化学的な相互作用に着目した。

Fe または P 制限条件下において、分離した 64 菌株の内生細菌のうち 55 菌株 (85.9%) に不溶態無機 P 可溶化能と siderophore 産生能が確認された。遺伝子同定の結果、siderophore 産生能が高い株は *Bacillus* sp. (N-3, 20) 及び *Streptomyces luteogriseus* (N-16)、P 可溶化活性が高い株は *Pseudomonas fluorescens* (Y-6) 及び *Gram-negative bacterium* (Y-20) であった。非制限条件下においても両活性が確認された株は *Rhizobium* sp. (N-24) であった。また、N-16、N-24、Y-6 及び Y-20 は N 固定能遺伝子 *nifH* を保持しており、実際の N 固定活性は Y-20 が最も高かった。植物ホルモンの一つであるインドール酢酸 (IAA) 産生能を有する株 (N-16、N-24、及び Y-6) も確認された。以上のことから、コウボウムギの根には不溶態無機 P 可溶化能、siderophore 産生能、N 固定能、及び IAA 産生能を有した細菌が内生していることが明らかになった。

P、Fe、及びNを獲得できる機能を有する菌株を、滅菌処理した現地土壌で生育させたコウボウムギ実生に接種したところ、実生の地下部の生育が特に促進された。また、siderophore 産生能の高いN-20を接種した際に、地下部におけるFe濃度の増加が確認された。一方、N固定活性が最も高いY-20を接種したところ、地上部N、Ca濃度が増加し、同じくN固定能があるY-6を接種することで地下部Nの増加が確認された。以上のことから、根に内生する細菌はコウボウムギの成長を促進し、一部の細菌は植物のN、Fe、及びCaといった無機栄養元素の獲得に寄与することが示唆された。

さらに、現地で採取したコウボウムギ根からのmethanol抽出物のethyl acetate層および水層に対する細菌株(N-20、N-24及びY-20)の走化性を解析したところ、全株が水層に対して誘引されたが、ethyl acetate層に対しては忌避を示した。GC-MS分析およびアミノ酸分析の結果、水層からは糖、有機酸、及びアミノ酸が検出され、既往報告よりglucose、galactose、sucrose、glutamic acid、aspartic acid、proline、valine、alanine、malic acid、及びcitric acidが内生菌株に対して誘引活性を示す候補化合物であると考えられた。一方、ethyl acetate層には検定糸状菌*Cladosporium herbarum*に対して抗糸状菌活性が確認された。各種機器分析の結果、抗菌活性物質としてtetrastilbene骨格を有するkobophenol Aであることが明らかになった。Kobophenol Aは、土壌中の微生物の細胞内への侵入に対する化学的防御機構を担うと考えられる。根表皮組織の間隙に生息すると考えられる内生細菌にとっては、根由来の浸出物からC源の獲得に加え、植物の化学防御に対して忌避性もしくは耐性を有することが根内への定着に影響する可能性が認められた。

審 査 の 要 旨

本研究では、砂浜海岸での無機栄養元素FeならびにNを獲得するコウボウムギと根に内生する細菌における共生系を実験室内における接種試験を通じて初めて明らかにした。また、有機化学分析等の機器分析を通じて、本植物に含まれる糖、有機酸、アミノ酸、及び抗菌活性物質kobophenol Aの内生細菌への影響を明らかにし、コウボウムギと内生細菌における化学的相互作用を明らかにした。これらの成果は、学術研究として極めて意義のある研究であると判断された。また、植物-微生物共生系を応用した海浜植生の復元や砂防緑化などの環境分野において、重要な基礎的知見を提供するものと判断された。

平成25年12月17日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(環境学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。