

	Натсэгдорж Ойунгэрэл
氏 名	NATSAGDORJ, Oyungerel
本籍（国籍）	モンゴル
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第 751 号
学位授与年月日	令和元年 9 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学
学位論文題目	Biochemical characteristics and plant tissue localization of plant growth-promoting bacteria isolated from sugar beet(<i>Beta vulgaris</i> L.)（甜菜から分離された PGPB の生化学特性と植物組織における局在）
学位審査委員	主査 大和田 琢二（帯広） 副査 折笠 善丈（帯広 助教）, 上村 松生（岩手 教授）, 杉山 修一（弘前 教授）

論文の内容の要旨

本研究では、テンサイ (*Beta vulgaris* L. cv. Rycka) と高い親和性がある細菌群の中で、植物体の初期生育を促進する 6 株「*Rhizobium* sp. HRRK 005 (NITE P-01604)、*Polaromonas* sp. HRRK 103 (NITE P-01607)、*Variovorax* sp. HRRK 170 (NITE P-01608)、*Mesorhizobium* sp. HRRK 190 (NITE P-01609)、*Streptomyces* sp. HRRK 192 (NITE P-01614)、*Novosphingobium* sp. HRRK 193 (NITE P-01610)」から、植物体の生育に係る生化学的特性に最も優れた菌株を選抜し、その野菜類における生育促進効果と植物組織局在性を明らかにすることを主目的とした。

まず、6 菌株の生化学的特性試験に適した増殖条件を決定するため、温度 10~40℃、pH4~10 における 48 時間の増殖を調べた。その結果、30℃、pH7.0 の増殖条件が最も適していること、および HRRK170 は広い温度範囲と pH で増殖可能なことを示した。さらに、上述した増殖条件で生化学的特性を比較した結果、HRRK170 は植物ホルモン（インドール酢酸：IAA）とバイオフィルムの十分な生成能力があり、特にシデロフォアの生産量と 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸（ACC）デアミナーゼの活性が有意に高いことから、有用細菌として選抜された。

次に、7 種類の野菜類を用いて、HRRK170 接種による生育への影響を調べた。その結果、ハクサイ、ピーマン、ナスの生育を促進し、特にハクサイとピーマンの生育は有意に促進されることを示した（無接種の生重量と乾重量に対する比（%）：ハクサイ、142.4, 157.1；ピーマン、149.0, 200.2）。しかし、トマトとレタスの生育は逆に阻害され、特にトマトの生育は著しく阻害されることを認め（無接種の生重量と乾重量に対する比（%）：72.5, 53.0）、HRRK170 は宿主植物により、生育の促進と阻害の両作用を併せ持つことを示した。そこで、この相反する効果の理由を調べるため、HRRK170 の GUS 標識株を用い、野菜類の実生組織における局在性を調べた。その結果、7 種類の野菜すべての根面に局在することを示すととも

に、局在は、根全体か部分的の 2 パターンあることを示した。しかし、生育効果との明確な相関は認められなかった。

HRRK170 (GUS 標識株) を用いて、植物体組織における局在を調べる GUS 染色の過程で、染色液が感染した標識株の GUS 活性により呈色することを見い出した。さらに、菌数と呈色度 (OD₆₁₅) には有意な相関が認められたことから ($R^2 = 0.9768$)、OD₆₁₅ から感染菌数を推定し、生育効果と感染菌密度 (植物体重量あたりの菌数) の相関を調べた。その結果、両者には有意な相関があることが認められた。すなわち、感染菌数が著しく多いか少ない場合は植物体の生育が阻害され、ある一定の範囲内であれば生育が促進されることが明らかになり、植物体の生育促進効果を発揮するためには、至適菌数が重要であることを初めて明らかにした。感染菌数が著しく多いと共生系が崩れ、細菌が植物体から栄養を搾取する片利共生となり、また植物体との共生関係が構築できない場合は、感染菌数が著しく低下する可能性が考えられた。

最後に、塩 (NaCl) と脱水 (ポリエチレングリコール:PEG) の環境ストレスによって抑制された植物体の生育を HRRK170 が軽減する可能性が検討された。ハクサイの 2 品種

(Haregi 85、Kigokoro 85) を用いて検討した結果、終濃度 20%PEG の存在下では、抑制された植物体の生育の軽減は 1 品種 (Kigokoro 85) でのみ確認されたが、終濃度 1.5%NaCl の存在下では、抑制された植物体の生育はいずれの品種でも軽減されることが示された。IAA とバイオフィルムの生産量がストレス下で向上する傾向が認められたことから、これらの生化学的特性の向上が植物体の根の伸長を促進し、イオン毒性を減少させることにより、ストレス下の植物体の生育抑制が軽減された可能性を推察した。

以上の結果から、HRRK170 は微生物接種菌として優れた特性を有していることが明らかになった。さらに、植物体の生育効果と感染菌数には相関があり、接種効果を最大限に引き出すためには接種菌の至適菌数が重要であることが明らかになった。本研究の成果によって、植物体の生育を促進する有望な微生物接種菌の開発とその適用方法の最適化が期待される。

論文審査の結果の要旨

テンサイ (*Beta vulgaris* L. cv. Rycka) と高い親和性を有し、植物体の初期生育を促進する細菌 6 株が単離された「*Rhizobium* sp. HRRK 005 (NITE P-01604)、*Polaromonas* sp. HRRK 103 (NITE P-01607)、*Variovorax* sp. HRRK 170 (NITE P-01608)、*Mesorhizobium* sp. HRRK 190 (NITE P-01609)、*Streptomyces* sp. HRRK 192 (NITE P-01614)、*Novosphingobium* sp. HRRK 193 (NITE P-01610)」。本研究では、この 6 株から、植物体の生育効果に係る生理・生化学的特性に最も優れた株 (HRRK170) を有用細菌として選抜し、植物体の生育促進効果が最大限に発揮される、至適菌数があることを初めて明らかにするとともに、植物体に対する塩や脱水ストレスを軽減する可能性を示した。

1. 細菌 6 株の生理・生化学的特性を比較し、HRRK170 は特にシデロフォアの生産量と 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) デアミナーゼの活性が有意に高いこと、および広い温度範囲と pH で増殖したことから、有用細菌として選抜した。
2. HRRK170 の野菜類の生育効果を調べ、特にハクサイとピーマンの生育を有意に促進することを示したが、トマトとレタスの生育は逆に阻害されることを示した。

3. HRRK170 (GUS 標識株) は調べた 7 種類の野菜すべての根面に局在することを示し、根全体か部分的な局在の 2 パターンを認めた。

4. HRRK170 (GUS 標識株) の GUS 染色液の発色度 (OD_{615}) により菌数を推定できることを見い出した。HRRK170 が植物体生育の促進と阻害の相反する効果を示したことから、生育効果と感染菌密度 (植物体重量あたりの菌数) の相関を調べ、植物体の生育促進効果が最大限に発揮される、至適菌数があることを初めて明らかにした。

5. HRRK170 は、植物体への塩と脱水ストレスを軽減する可能性を示し、植物ホルモン (インドール酢酸) とバイオフィーム生産が原因である可能性を示した。

これらの結果は、HRRK170 の微生物接種菌としての優れた特性を明らかにするとともに、植物体の生育効果と感染菌数には相関があり、接種効果を最大限に引き出すためには接種菌の至適菌数が重要であることを明らかにした。以上により、本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士 (農学) の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

Natsagdorj, O., Sakamoto, H., Santiago, D. M. O., Santiago, C. D., Orikasa, Y., Okazaki, K., Ikeda, S., and Ohwada, T. (2019). *Variovorax* sp. has an optimum cell density to fully function as a plant growth promoter. *Microorganisms*, 7 (3), 82; doi:10.3390/microorganisms7030082.