

学位論文審査の結果の要旨

Summary of Doctoral Dissertation Examination

氏 名/Name	Toga Pangihotan Napitupulu
審査委員 Examining Committee	Chief Examiner 主 査 霜村 典宏 (印)
	Assistant Examiner 副 査 會見 忠則 (印)
	Assistant Examiner 副 査 阿座上 弘行 (印)
	Assistant Examiner 副 査 上野 誠 (印)
	Assistant Examiner 副 査 早乙女 梢 (印)
題 目 Title	Bacterial–fungal interactions between <i>Paraburkholderia fungorum</i> GIB024 isolated from a <i>Rhizopogon roseolus</i> sporocarp and ectomycorrhizal fungi: Mycelial growth-promoting activity and fungal strain specificity
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内) /Summary of Doctoral Dissertation Examination (Within 1200 words)</p> <p>ショウロ <i>Rhizopogon roseolus</i> は食用きのこであり、クロマツ <i>Pinus thunbergii</i> と共生する外生菌根菌である。これまでの研究で本きのこ子実体からショウロ菌糸生育を促進する細菌 <i>Paraburkholderia fungorum</i> GIB024 および <i>P. caledonica</i> KN1 が分離されている。しかしながら、これらの細菌の菌糸生育促進に関与する物質やその作用メカニズムに関する知見は少ないのが現状である。そこで、本研究では、菌糸生育促進に関与する物質の探求と多様な外生菌根菌の菌糸生育に及ぼす特異的作用に関する調査をした。</p> <p>まずは、子実体から分離した <i>P. fungorum</i> GIB024 および <i>P. caledonica</i> KN1 細菌が示す菌糸生育促進効果を効率よくかつ安定的に検定するために、検定条件を再度検討した。GIB024 細菌とショウロ菌糸体を同一培地内で培養する二員培養検定における培地成分の影響について調査した。その結果、グルコースを除去した貧栄養条件下では、GIB024 細菌は著しい菌糸生育促進効果を示したが、KN1 は阻害効果を示した。一方、グルコース添加培地では、両細菌が若干の生育促進効果を示した。細菌培養液におけるショウロ菌糸生育促進効果を検出するための細菌培養条件と菌糸生育促進効果との関連性を調査した。その結果、GIB024 細菌を攪拌培養し殺菌したろ液よりも静置培養し殺菌したろ液の方が、促進効果が高かった。さらには、殺菌細菌ろ液は、低濃度が有効であり、菌糸体培養培地へ添加する細菌ろ液を増大させると、菌糸生育が阻害される傾向が認められた。以上のことから、菌糸生育促進効果は用いる細菌の種類や培地の栄養条件に依存していること、また、菌糸生育促進効果は低濃度の水溶性の物質が関与していることが示唆された。</p>	

次いで、GIB024 細菌がショウロ菌糸生育を促進する作用に及ぼす炭素源の影響について調査した。本調査をするにあたり、2 区画寒天培地検定法を開発した。第 1 区画はグルコースを除く 1/5 濃度 MMN 寒天培地とし、ここでショウロ菌糸体を培養した。第 2 区画は様々な炭素源を含む寒天培地でありここで GIB024 細菌を培養した。これらの寒天培地を同一容器内で接合させ、ショウロ菌糸体生育に及ぼす GIB024 細菌の効果について調査した。その結果、ショウロの菌糸体生育は GIB024 細菌を有機酸含有培地で培養すると顕著に促進された。GIB024 細菌は有機酸含有培地で旺盛に増殖し、細菌培養培地の pH は上昇した。さらには、殺菌した細菌懸濁液でもショウロ菌糸生育を促進した。以上のことから、GIB024 細菌とショウロ菌糸体間の相互作用に有機酸が重要な役割を演じていると思われた。

最後に、菌糸生育促進効果の特異性について多様な外生菌根菌を用いて調査した。調査方法としては、きのこ菌糸と GIB024 細菌を同一シャーレ内で離して培養する二員培養検定法と細菌培養ろ液での検定法の両検定法を用いた。その結果、クロマツ林から分離したアマタケ *Suillus bovinus* の菌糸生育を著しく促進したが、アカマツ *P. densiflora* 林から分離したアマタケの菌糸生育は促進しなかった。このことは、同一のきのこ種であっても、共生する樹木種が異なる菌株系統を用いると細菌への反応性が異なることを示している。さらに、GIB024 細菌はクロマツ林や他のマツ林から採取したチチアワタケ *S. granulatu* や他の *Suillus* 属のきのこ菌糸生育に対して促進効果を示さないか、あるいは反対に阻害的に作用した。また、本現象は、細菌培養ろ液でも同様の現象が認められた。以上のことから、GIB024 細菌はショウロを含め宿主クロマツと共生するきのこ菌株系統に対して特異的に生育促進作用を示すと考えられた。また、本きのこ菌株系統特異性に関与する物質は低濃度の水溶性物質であると考えられた。

以上の研究は、GIB024 細菌が生産する水溶性物質が外生菌根菌ショウロの菌糸生育促進に関連する物質であること、また、おそらくショウロ菌が分泌する有機酸を GIB024 細菌が利用して菌糸生育促進物質を生産している可能性があること、さらには、細菌が示す菌糸生育促進効果にはきのこ菌株系統特異性があり、その特異性には低濃度の水溶性物質が関与することを明らかにした。これらの一連の結果は、細菌と外生菌根菌との相互作用に関する理解を深めるための基礎的知見を提供し、さらには、GIB024 細菌を用いたショウロ感染苗木の育成やきのこ栽培等の応用研究の発展にも貢献する成果であることから、本論文は博士（農学）の学位論文として十分価値を有すると判断した。