

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	水野 雅之
論文題目	Studies on distribution and colonization of facultative methylotrophic bacteria <i>Methylobacterium</i> spp. on the perilla plant (通性メチロトロフ細菌 <i>Methylobacterium</i> spp. のシソ上での分布と定着能に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>植物葉圏には、<i>Methylobacterium</i> 属細菌に代表されるピンク色色素を生産する通性メチロトロフ細菌 (pink-pigmented facultative methylotroph; PPFM) が優占種として広く棲息し、その植物生育促進効果、ならびに、相利共生における植物-微生物間相互作用の点から注目を集めている。しかし、その宿主特異性に関する研究は少なく不明な点が多い。本論文では、農業・食品産業分野で重要な蔬菜に棲息する PPFM の種レベルでの分布と、その特性を明らかにした。その主な内容は以下の通りである。</p>			
1. 同一圃場 (100 m ²) で同時期に栽培した 8 種の蔬菜、ならびに、市販されている 6 種の蔬菜の葉上における PPFM の分布を調べたところ、供試した全ての蔬菜葉で PPFM が検出され、蔬菜種により葉上の PPFM の数と種が異なることを見出した。また、供試した蔬菜の中では市販アオシソ葉に PPFM が最も多く存在し、葉上の総菌数の約15%を PPFM が占めることを明らかにした。			
2. アオシソ種子には <i>Methylobacterium radiotolerans</i> JCM2831 ^T 株、アカシソ種子には <i>M. fujisawaense</i> DSM5686 ^T 株 をそれぞれ最近縁とする菌株が優占化していることを明らかにし、シソと PPFM が種特異的な共生関係を持つことを初めて示した。			
3. シソ類と PPFM 間の特異的な相互作用に及ぼす地理的な影響を調べるため、京都・大原地区の圃場で 2009 年に採取したアカシソ種子を、国内の異なる 4 地域 (山形、静岡、三重、京都) で栽培した。全ての地域で栽培した新鮮葉と種子から分離した PPFM が、アカシソ種子から単離した <i>Methylobacterium</i> sp. OR01 株と同一の 16S rRNA 配列を持つことを明らかにし、PPFM のアカシソにおける宿主特異性は、地理的影響を受けないことを示した。			

4. *Methylobacterium* sp. 0R01 株にカナマイシン耐性を賦与した株を分子育種し、その培養菌体を滅菌処理したアカシソ種子に接種して、Hoagland寒天培地に播種した。無菌的に栽培した幼葉から分離した PPFM がカナマイシン耐性であったことから、アカシソ種子からの発芽・生長とともに、*Methylobacterium* sp. 0R01 株が垂直伝播により葉上に移行することを初めて確認した。
5. *Methylobacterium* sp. 0R01 株由来のカナマイシン耐性株を他の *Methylobacterium* 属細菌由来のテトラサイクリン耐性株と混合して滅菌アカシソ種子に接種し、幼葉から PPFM を分離・同定する定着能競合試験を行った。その結果、*Methylobacterium* 属細菌のモデルである *M. extorquens* AM1 株との比較において、*Methylobacterium* sp. 0R01 株が、より強いアカシソへの定着能を有することを明らかにした。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせ

て、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文では、農業・食品産業において重要な蔬菜に棲息する PPFM の種レベルでの分布と、シソに優占化する PPFM の特性を明らかにした。評価すべき点は以下の通りである。

1. 同一圃場で同時期に栽培した蔬菜でも、蔬菜種により葉上の PPFM の数と種が異なること、市販アオシソ葉に PPFM が最も多く存在することを初めて明らかにした。
2. アオシソ種子には *Methylobacterium radiotolerans* JCM2831^T 株、アカシソ種子には *M. fujisawaense* DSM5686^T 株をそれぞれ最近縁とする菌株が優占化していることを明らかにするとともに、PPFM とシソとの種特異的な共生関係は地理的影響を受けないことを明らかにした。
3. アカシソ種子から単離した *Methylobacterium* sp. OR01株が、アカシソの生長とともに垂直伝播により葉上に移行することを初めて確認した。
4. 他の *Methylobacterium* 属細菌との比較において、*Methylobacterium* sp. OR01株が、アカシソへのより強い定着能を有することを明らかにした。

以上のように、本論文は、蔬菜と PPFM の関係について精査し、従来、明らかにされてこなかった植物-PPFM間における種特異的共生関係を明確に裏付け、PPFM の植物への優占化が定着能の強さに起因することを示した。これらの成果は、植物-微生物相互作用に関する新たな知見を提供するにとどまらず、宿主特異性や生長促進効果の機構解明へと展開できる知見を含んでおり、制御発酵学、応用微生物学、微生物生態生理学の分野に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成25年4月16日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：平成26年5月1日以降