

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	重田 佳奈
論文題目	Studies on symbiotic interactions of <i>Candida boidinii</i> with other yeast species and host plants in the phyllosphere （葉圏における <i>Candida boidinii</i> と他種酵母および宿主植物との相互作用に関する研究）		
（論文内容の要旨）			
メタノール資化性微生物はメタノールを単一の炭素源・エネルギー源として生育できる微生物であり、植物の地上部である葉圏に広く存在する。これらの微生物は、葉圏において植物細胞壁の主要構成成分であるペクチンのメチルエステル基が加水分解されて生成するメタノールを炭素源として利用する。原核微生物であるメタノール資化性細菌は、葉圏で優占化して宿主植物に生長促進効果を示すことが知られており、その分子機構に関する研究も進んでいる。一方、真核微生物であるメタノール資化性酵母については、植物試料からの単離および葉圏での増殖は報告されているものの、葉圏における生態と生理機能については不明な点が多く、特に他種微生物や宿主植物との相互作用については明らかにされていない。そこで本論文では、メタノール資化性酵母<i>Candida boidinii</i>と他種酵母および宿主植物との相互作用メカニズムを解明することを目的とした。 第一章では、葉圏におけるメタノール資化性酵母と他種酵母との相互作用を調べるために、葉圏からの酵母の単離を行った。その結果、メタノール資化性酵母としては<i>C. boidinii</i>のみが得られた。また、他種酵母として12属17種を同定し、これらの中には植物生長促進酵母（plant growth-promoting yeast: PGPY）として知られる<i>Papiliotrema laurentii</i>, <i>Rhodospiridiobolus ruineniae</i>, <i>Rhodotorula paludigena</i>が含まれていた。そこで、<i>C. boidinii</i>と<i>P. laurentii</i>との葉圏での相互作用を調べたところ、<i>C. boidinii</i>が<i>P. laurentii</i>のシロイヌナズナ葉圏への定着を向上させることを見出した。次に、葉圏でのメタノール供給源であるペクチンに着目し、両酵母のペクチン利用特性を評価したところ、<i>C. boidinii</i>はペクチンのメチルエステル基を利用できる一方、<i>P. laurentii</i>は利用できないことが示された。さらに、<i>C. boidinii</i>が<i>P. laurentii</i>の葉圏定着を促進する効果には、<i>C. boidinii</i>のメタノール資化能およびペクチンのメチルエステル基を加水分解するペクチンメチルエステラーゼ（PME）活性が重要であることを示した。これらの結果から、<i>C. boidinii</i>は葉圏でペクチンからメタノールを生成して利用するだけでなく、<i>P. laurentii</i>など他種酵母にペクチン分解産物を供給し、その葉圏定着を促進するというメカニズムを提唱した。 第二章では、葉圏から単離した<i>C. boidinii</i>の植物生長促進効果について調べ、酵母懸濁液の接種によりシロイヌナズナ、イネ、コマツナの生長が促進されたことから、<i>C. boidinii</i>がPGPYとして機能することを認めた。また、<i>C. boidinii</i>が植物ホルモンのオーキシンであるインドール-3-酢酸（IAA）を合成すること、シロイヌナズナのオーキシン応答遺伝子の発現を誘導することを明らかにした。これらの結果から、植物上での<i>C. boidinii</i>のIAA合成が、植物生長促進効果の一因であると推定した。さらに、<i>C. boidinii</i>と<i>P. laurentii</i>の共接種により、シロイヌナズナの生長促進およびオーキシン応答が<i>P. laurentii</i>の単独接種よりも増強されることを見出した。 第三章では、葉圏において他種酵母や宿主植物と共生関係を構築する<i>C. boidinii</i>が、栄養源や温度・湿度が変動する動的かつ過酷な葉圏環境にどのように適応しているのかを明らかにするために、出芽酵母<i>Saccharomyces cerevisiae</i>においてストレス応答や			

代謝に関わる多機能調節因子として知られるGts1に着目し、*C. boidinii*におけるホモログであるCbGts1の葉圏での役割を調べた。*C. boidinii*においてCbGTS1遺伝子を同定し、その破壊株（Cbgtts1Δ株）のシロイヌナズナ葉上での増殖を評価したところ、野生株に比べて低下することを見出した。また、Cbgtts1Δ株では高塩濃度耐性が低下したことから、CbGts1が葉圏環境への適応と生存、および塩ストレス耐性に寄与する重要な因子であ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)

植物葉圏に棲息するメタノール資化性酵母については、葉圏で増殖可能なことは知られていたが、他の微生物や植物との生物間相互作用メカニズムについては不明な点が多く残されていた。本論文は、*C. boidinii*が他種酵母の増殖を促進すること、植物に対する生長促進効果を示すことを初めて明らかにしたものであり、メタノール資化性酵母の葉圏における生物間相互作用や細胞生理機能を多角的に解析し、他種酵母や植物への生長促進効果の基盤となる分子メカニズムを初めて提唱した。評価すべき点として、以下の3点が挙げられる。

1. メタノール資化性酵母*C. boidinii*が、PGPYである*P. laurentii*の増殖および葉圏定着細胞数を増加させることを見出し、葉圏における*C. boidinii*と*P. laurentii*とのペクチン利用を介した相互作用メカニズムを明らかにした。
2. *C. boidinii*がメタノール資化性酵母として初めてのPGPYであることを明らかにし、*C. boidinii*によるIAA合成がその一因であると示唆する結果を得た。さらに、*C. boidinii*と*P. laurentii*の共接種により、植物の生長促進効果およびオーキシン応答が増強されることを見出した。
3. *S. cerevisiae*において多機能調節因子として報告されているGts1の*C. boidinii*でのホモログCbGts1を同定し、葉圏環境への適応と生存、および塩ストレス耐性に寄与する因子であることを明らかにした。

以上のように本論文は、葉圏におけるメタノール資化性酵母*C. boidinii*と他種酵母*P. laurentii*との相互作用、*C. boidinii*の植物生長促進効果、*C. boidinii*の葉圏環境への適応と生存に重要な因子について明らかにしたものであり、メタノール資化性酵母を用いた農業用資材の開発に寄与する知見が得られたことから、制御発酵学、応用微生物学、微生物生態学の発展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、令和8年1月28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。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：令和8年6月23日以降（学位授与日から3ヶ月以内）