

学 位 論 文 要 旨

氏 名

魏 弘毅

題 目

光合成細菌の応用に関する研究
(Application of photosynthetic bacteria: biocontrol of pathogenic root rot fungus and other applications)

研究では、豚舎排水や湖底泥からのサンプルより紅色非硫黄細菌 (PSB) を単離し、排水処理や根腐れ病をもたらす紋羽菌に抗菌活性への応用を検討した。まず、養豚場排水から紅色非硫黄細菌の分離を行い、各種性状検査や分子系統解析および分離株が廃水処理に有効であるのかどうかを検討するために標準株との増殖速度および分解能の比較実験を行った。また、根腐れ病をもたらす紋羽菌に抗菌活性を持つ *Bacillus* 属の細菌を分離し、光合成細菌と混合培養した際の拮抗作用を調べた。最後に、光合成細菌と *Bacillus* 属の分離株の添加により土壌根圏細菌群集変化を、PCR 変性勾配ゲル電気泳動 (PCR-DGGE) によって調べた。

系統解析の結果は、PSB の分離株は *Rhodopseudomonas* 種であることが示唆された。色素の分析結果は、分離株がバクテリオクロフィル、バクテリオ a とカロテノイド様の物質を保持していることを示した。生育実験について、全ての株は光独立栄養状態と比較し、光合成従属栄養と従属栄養条件下でより良い成長を観察された。また、標準株と比較して、PSB の分離株は、すべての条件でより良い成長を示した。

PSB A 株は、以下の生物学および生化学的研究のために選択された。嫌氣的明条件において、炭素の利用形態を調べたところ、A 株および標準株について、200 mM のピルビン酸、プロピオン酸、リンゴ酸およびコハク酸においては A 株が標準株よりも良好な増殖を示した。また、330 時間の培養で、揮発性脂肪酸 (VFAs)、TOC およびアンモニア態窒素の濃度は減少した。これらの指標では A 株は標準株と同様な分解能を示した。本 A 株は、豚舎排水の処理微生物として有用であると考えた。

根腐れ病をもたらす紋羽菌は、鹿児島県であるサツマイモの農場 (鹿児島県鹿屋市) から単離した。従属栄養細菌は、紫紋羽病に感染された畑から肉エキス寒天平板を使用して分離した。光合成細菌 1 株および従属栄養細菌 7 株について、ディスク配置法により上記病原菌の生育に対する拮抗性を評価した。*Helicobasidium mompa* は、オートミール寒天培地およびブドウ糖寒天培地上に増殖させ、光合成細菌及び従属栄養細菌の培養液は滅菌済みのろ紙ディスクに添加し、このろ紙ディスクを既に増殖した真菌叢上に置き、25°C で培養を行った。菌糸の成長を抑制することにより抗糸状菌活性を評価した。*Bacillus polyfermenticus* に属する 1 菌は単独で抗菌活性を示した。*Bacillus aerophilus* に属する 2 菌は、光合成細菌 *Rhodopseudomonas faecalis* と共存させるとさらに強い活性を示すことを明らかにした。

サツマイモ畑の土に単離された微生物 (PSB A 株、バチルス属 AUT3、AUT9 株) を添加し、根圏微生物群集変化を PCR-DGGE 法と培養計数法を用いて分析した。培養計数の結果は添加した光合成細菌の菌数は 7 日目には減少した。PCR-DGGE 解析の結果、微生物添加から 7 日目には微生物相に僅かなシフトが観察された。また、PSB と AUT9 のバンドが検出されたが、AUT3 は明瞭なバンドが検出されなかった。PSB 添加したマイクロコスムのみでは、明瞭なバンドが検出された。このバンドは系統解析の結果より、*Catenulispora yoronensis*, 放線菌の一種に関連することが示唆された。