



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Characterization of Plant Probiotic Isolates of
Lysinibacillus spp.

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2022-06-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: NUSRAT AHSAN メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/87500

氏名(本国籍)	NUSRAT AHSAN (バングラデシュ人民共和国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第774号
学位授与年月日	令和3年12月20日
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	Characterization of Plant Probiotic Isolates of <i>Lysinibacillus</i> spp. (植物プロバイオティック <i>Lysinibacillus</i> 属菌株の 特性評価)
審査委員会	主査 岐阜大学 准教授 須賀晴久 副査 岐阜大学 准教授 清水将文 副査 静岡大学 准教授 一家崇志

論文の内容の要旨

近年、作物の生産性維持と低環境負荷の両立を実現する方法として植物プロバイオティック細菌(植物に有益な共生細菌)の活用に応じた大きな期待が寄せられており、植物プロバイオティック細菌株の探索が各国で精力的におこなわれている。これまでに様々な種類の植物プロバイオティック細菌が発見されているが、それらの多くは圃場条件下でのパフォーマンスが不安定である、あるいは、資材化が難しいといった問題があり、実用化が進んでいない。そこで本研究では、実用に耐えうる植物プロバイオティック資材の開発を目指し、芽胞形成能を有する *Lysinibacillus* 属細菌の中から、植物成長促進作用および病害抑制作用を有する菌株を探索することとした。

第一の研究では、*Lysinibacillus* 属細菌の植物成長促進作用を評価した。まず初めに、16S rRNA 遺伝子塩基配列の解析により、当研究室保有の土壌・植物根圏細菌コレクションの中から、*Lysinibacillus* 属細菌を 10 菌株抽出した。第一次選抜試験では、Jiffy-7 ペレットに播種したホウレンソウにこれらの菌株を接種し、人工気象器内で育成した。その結果、*L. pakistanensis* GIC31 株および GIC51 株、*L. xylanilyticus* GIC41 株の 3 菌株がホウレンソウの地上部バイオマスを増加させた。そこで次に、人工気象器内でポット試験をおこない、これら 3 菌株の成長促進効果を比較した。この試験では、川砂とバーミキュライトを詰めた 150 mL 容プラスチックポットに液体肥料を施肥した後、ホウレンソウを播種して栽培した。播種 1 週間後に細菌株を灌注接種し、20 日後に地上部バイオマスを測定した。その結果、GIC41 株が最も高い成長促進効果を示したことから、本菌株を候補株として選抜した。本研究では、さらに、プラ

ンター試験を実施し、温室条件下での GIC41 株の成長促進効果も評価した。育苗トレーで育成したハウレンソウ苗に GIC41 株を灌注接種した後、育苗培土を充填したプランター（64 cm × 22 cm）に移植し（5 株／プランター）、ガラス温室内で 6 週間栽培した。栽培後、地上部を収穫し、地上部バイオマスおよび炭素と窒素の含有量（%）を測定した。この試験は、時期を変えて 3 回実施したが、いずれの試験でも GIC41 株は顕著な成長促進効果を示した。一方、炭素と窒素の含有量は対照区と大差がなかった。次に、施肥レベルが GIC41 株の成長促進効果に及ぼす影響をポット試験で検討したところ、標準的な施肥レベルでは有意な成長促進効果が得られるが、施肥レベルを 1/10 以下に下げると効果が大きく低下することがわかった。このことから、GIC41 株を微生物資材として利用する場合には、土壌の栄養条件をある一定レベルに保っておく必要があると考えられた。

GIC41 株接種区では、ハウレンソウの側根の発達が著しく促進されたことから、植物ホルモンであるインドール酢酸（IAA）が成長促進メカニズムに関与する可能性が考えられた。そこで、微生物の植物成長促進メカニズムに関与するとされる主要な 5 つの特性を *in vitro* で検定したところ、GIC41 株は IAA 産生能のみを有していることが明らかとなった。このことから、GIC41 株は IAA を産生し、側根の発達を促すことで土壌からの養分吸収を高め、植物成長を促進している可能性が示唆された。ただし、成長促進メカニズムの詳細説明には更なる解析が必要である。

第二の研究では、*Lysinibacillus* 属細菌の病害抑制効果を評価した。まず初めに、*Sclerotinia sclerotiorum* によるキャベツ苗立枯病に対する抑制効果を検討した。バイアル瓶（直径 5 cm、高さ 9 cm）に PDA 培地 3 ml を分注し、固化後、*S. sclerotiorum* を接種した。その上に滅菌培養土を重層し、キャベツを 5 粒播種した後、滅菌培養土で覆土した。そこへ各 *Lysinibacillus* 属細菌株を接種し、人工気象器内で 10 日間培養して発病抑制効果を評価した。その結果、いずれの菌株も発病を抑制したが、特に、GIC41 株が最も高い抑制効果を示し、発病度を平均 49% 低下させた。そこで次に、*Pythium aphanidermatum* によるハウレンソウ苗立枯病に対する GIC41 株の抑制効果を検討した。育苗培養土を詰めた 9 cm ポットにハウレンソウを 3 粒播種し、人工気象器内で育苗した。播種 7 日後、*P. aphanidermatum* の遊走子と GIC41 株を共接種し、さらに 15 日間育苗した。その結果、GIC41 株接種区では有意に発病が抑制され、発病度を平均 52% 低下させた。以上の結果から、GIC41 株は植物成長促進作用だけでなく、病害抑制作用も併せ持つ優れた菌株であることが明らかとなった。

寒天培地上で GIC41 株と病原菌を対峙培養したところ、病原菌成長はまったく阻害されなかったことから、本菌株の病害抑制作用には二次代謝産物による抗菌作用は関与しないものと推測された。ただし、病害抑制メカニズムの詳細説明には更なる解析が必要である。

以上のように、本研究では、優れた植物成長促進作用と病害抑制作用を併せ持つ *L. xylanilyticus* GIC41 株を選抜することに成功した。このような作用を持つ *L. xylanilyticus* はこれまで報告されておらず、学術的にも新規性の高い知見が得られた。

審査結果の要旨

申請者 Nusrat Ahsan 氏は、2007 年に新設された *Lysinibacillus* 属細菌の農業利用の可能性を検討するため、土壌や植物根圏由来の *Lysinibacillus* 属菌株の植物成長促進効果と病害防除効果を検討した。同氏の研究成果を要約すると以下の通りである。

- 1) *Lysinibacillus* 属細菌 10 株の中から、ホウレンソウ成長を顕著に促進する *L. xylanilyticus* GIC41 株を見出した。*L. xylanilyticus* の植物成長促進作用はこれまで報告されておらず、新規の発見である。
- 2) キャベツ菌核病および *Pythium aphanidermatum* によるホウレンソウ立枯病に対する *Lysinibacillus* 属菌株の抑止性を評価し、GIC41 株が両病害に対して顕著な防除効果を示すことを明らかにした。*L. xylanilyticus* の病害防除効果も未報告であり、新規の発見である。

以上の知見はいずれも学術的に新規性が高く、かつ化学農薬と化学肥料の削減に寄与する新規微生物資材の開発につながる研究成果であることを認める。

基礎となる学術論文

- 1) Ahsan, N. and Shimizu, M.: *Lysinibacillus* species: Their potential as effective bioremediation, biostimulant, and biocontrol agents. *Reviews in Agricultural Sciences* 9, 103-116, 2021.
- 2) Ahsan, N., Marian, M., Suga, H. and Shimizu, M.: *Lysinibacillus xylanilyticus* strain GIC41 as a plant biostimulant, *Microbes and Environments* (印刷中)