

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Bubai Bhakta
審査委員	主査 大西 浩平 副査 渡邊 誠也 副査 渡邊 彰 副査 加藤 伸一郎 副査 村松 久司

論文名

Study on Improvement of agricultural productivity using biotic and abiotic factors

(生物的・非生物的要素による農業生産性の向上に関する研究)

審査結果の要旨

農業における生産性を向上させるために様々な生物的、非生物的要素が利用される。本論文においては1種類の非生物的（弱酸性次亜塩素酸水）と2種類の生物的（ユズ残渣利用細菌、緑藻ウルバン利用細菌）要素について研究を行った。

弱酸性次亜塩素酸水（slightly acidic electrolyzed water, SAEW）は、塩酸又は塩化カリウム水溶液を無隔膜電解槽で電気分解することにより製造される。種々の製造装置が市販されているが、本論文では高知県のコアテック社のコア・クリーンを利用して製造したものを使用した。弱酸性次亜塩素酸水は2013年に農水省により特定農薬に指定されており、作物を問わず使用することができる利点がある。ただし、保存すると有効塩素濃度が減少してしまうため、製造後直ちに使用することが求められている。

本論文では、まず SAEW の細菌への効果について再確認するため試験管内での殺菌効果を調べた。一晚培養した大腸菌と枯草菌のそれぞれを様々な有効塩素濃度の SAEW と混合したのち、希釈後、LB 寒天培地に塗布し、生育するコロニー数をカウントすることで、生菌数を計測した。滅菌水と混合した場合の生菌数を対照とし、生菌率を算出した。大腸菌と枯草菌では、SAEW の殺菌効果に違いがあったが、25-30 ppm の有効塩素濃度の SAEW を使用すれば、いずれの細菌もほぼ完全に死滅させることができた。なお、LB 培地での一晚培養液を洗浄することなく使用した場合には、殺菌効果は全く見られなかった。これは SAEW が培地中の有機体成分と反応して、有効塩素が消失してしまうためにおこると予想された。

試験管内での SAEW の有効性が示されたことから、ハウス内で SAEW を噴霧することによる、微生物数のコントロールの可能性について調べた。ハウス（11 m × 12 m × 3 m）を半分に区切り、それぞれの区画に水道水と SAEW をミスト発生装置を用いて噴霧した。ミストの大きさが 10-30 μm となるようなノズルを使用した。ハウスの空気中の微生物（細菌）はエアサンプラーを用いて PBS を含むインピンジャー中に捕集した。捕集した微生物を含む PBS 溶液は2等分し、それぞれ DAPI と PI で染色した。DAPI は全菌を PI は死菌を特異的に染色することができる。その後、メンブレンに細菌をトラップし、蛍光顕微鏡で蛍光標

識された細菌数をカウントすることにより、死菌と生菌を分離した。その結果、SAEW の噴霧前においても、ほぼ半数の空气中浮遊細菌は死んでいることが明らかとなった。一方、SAEW 噴霧により、死菌の数は著しく増加した。ハウスは完全な密閉空間ではないため、SAEW を噴霧した後も、外部からの微生物の侵入を阻止することはできない。しかしながら、SAEW 噴霧直後は、空气中的浮揚微生物の多くを死滅させることができることが明らかとなった。SAEW は特定農薬に指定されているように、負の側面はあまりないと思われる。

そこで、ハウス内で栽培している作物の生育に及ぼす SAEW 噴霧の影響を調べた。キュウリ、ナス、ニラをハウス内で生育させ、キュウリ、ナスは側枝の成長を、ニラは全体的は茎の高さを測定し、成長量の指標とした。その結果、SAEW 噴霧区画と水道水噴霧区画で作物の生育は全く差がなかったことから、1日2時間から3時間程度の噴霧は作物の生育には全く影響しないことが明らかとなった。

ハウス内の土壌や作物の葉の表面には、多くの有用微生物が存在している。SAEW 噴霧がこうした有用微生物に与える影響について、噴霧前後の土壌や葉面微生物の微生物群集解析を行うことで評価した。その結果、SAEW の噴霧前後で、土壌微生物や葉面微生物の群集に変化がないことがわかり、SAEW の影響は見られなかった。

細霧噴霧はハウス内の温度や湿度をコントロールすることが可能である。そこで、SAEW 噴霧の前後での温度、湿度変化について調べた。基本的に SAEW 噴霧と水道水噴霧で効果に違いは見られなかった。一般的にミスト噴霧で気温は下がるが、本論文では、温度下降の効果はあまり見られなかった。一方で、雨の日で湿度が 100%に近い場合を除いて、ミスト噴霧により日中の湿度上昇が観察された。これは、日中の作物の光合成能力の低下を改善するために有効であることを示している。

ユズは高知県の主要作物で、主にジュースなど加工品として利用されている。そのため搾汁残差が大量に発生する。これを例えばコンポストに利用することができれば、未利用資源の有効活用につながる。問題点としては、ユズ残渣は多くの有機物を含むことから pH4 付近の酸性であるため、通常の微生物では分解できないことである。そこで、ユズ残渣を炭素源として集積培養を行い酸性条件でも分解できる細菌を単離したところ、いずれも *Burkholderia* 属に属していた。*Burkholderia* 属細菌は酸耐性があることが知られており、よく合致している。単離した株は 16s rDNA 部分配列から7種類に分類されたことから、それぞれについて、異なる酸性 pH での増殖を調べた。その結果、一部の株はより低い pH でも増殖可能であった。また各株の培養培地に種々の量のユズ残渣を加えた際の残渣中の糖（グルコース、フルクトース、ショ糖）の消費を調べた。その結果、より酸性が強い条件ではグルコース消費が優先し、YK2054 株は消費量が最も多かった。この株はユズ残渣コンポストに適用できると期待された。

ウルバンは緑藻がもつ硫酸化多糖である。ウルバンそのものや分解産物であるオリゴウルバンは農業資材としての利用が検討されている。オリゴウルバンは物理的、化学的分解でも取得可能であるが、酵素的に分解することがより有効である。海洋中にはウルバンを資化できる細菌が存在しており、これら細菌はウルバン分解酵素を保有している。本論文では、緑藻ミナミアオノリ由来のウルバンを資化する細菌を分離し、そのゲノム配列を解析した。ゲノム配列の結果、いずれの細菌もウルバン分解に関連した遺伝子領域 polysaccharide utilization locus (PUL)を有しており、その中に複数のウルバン分解初発酵素ウルバンリアーゼが存在していた。

本論文に関する公開審査会は、令和5年2月5日に愛媛大学農学部で開催され、論文発表と質疑応答が行われた。引き続いて行われた学位論文審査委員会で、本論文の内容を慎重に審査した結果、審査委員全員一致して博士（学術）の学位を授与するものと判定した。