HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	A trial to enhance the production yield of a duckweed, Lemna gibba, in food factory wastewater utilizing indigenous bacteria [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Khairina, Yeni
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第14335号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81884
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yeni_Khairina_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士（環境科学）　　氏　名　Khairina, Yeni

審査員	主査	教授	森川　正章
	副査	教授	福井　　学
	副査	教授	山口　良文
	副査	准教授	三輪　京子

学 位 論 文 題 名

A trial to enhance the production yield of a duckweed, *Lemna gibba*, in food factory wastewater utilizing indigenous bacteria
（食品工場排水における土着細菌を活用した ウキクサ植物 *Lemna gibba* の生産収率向上の試み）

浮遊性の小型水生植物、ウキクサ亜科植物（Lemnoideae）は、タンパク質含量およびデンプン含量が高く、広範囲の用途を持つ有用バイオマス資源のひとつとして最近注目されている。一方、下水処理あるいは種々の排水処理は大きな電気エネルギーの消費を伴うために、産業社会における温室効果ガスの発生源のひとつとなっている。ウキクサは排水中の窒素やリンを栄養として吸収するために、その生育に伴って水は浄化される。すなわち、排水を肥料としたウキクサバイオマスの効果的な生産技術は、資源循環型社会を構築するための基盤のひとつとなり得る。本論文では、そのためのケーススタディとして、大手食品会社のタイ工場処理排水、A-排水（A-WW）と K-排水（K-WW）を対象として、あらかじめ選抜したウキクサの一種であるイボウキクサバイオマス生産速度を向上する試みを報告している。

これらの排水は、ウキクサ用培地である Hoagland 培地と比較して、ナトリウムとリン酸塩が大幅に多い一方で、窒素濃度が 100 分の 1 程度であるため、イボウキクサの生育に不利であった。そこで、この問題に対して以下、以下３つのアプローチを試みた。

植物成長促進細菌（以下、PGPB）は、作物およびウキクサなどのバイオマス資源生産量を向上させるための古くて新しい自然ベースの技術ツールである。まず第 I 章では、栄養状態が不均衡な A-WW および K-WW に有効な PGPB を探索した。ウキクサが自然に繁殖する北大植物園池から以前に得られた２種類の高活性 PGPB、アシネトバクター・カルコアセチカス P23 およびシュードモナス・フルバ Ps6 は、驚いたことにこれらの排水環境ではイボウキクサの成長を促進せず、逆に阻害することがわかった。そこで、排水環境に既に適応している排水土着細菌群からイボウキクサに対する PGPB を探索し、全く新しい PGPB、クリセオバクテリウム 27AL の獲得に成功した。すなわち、ウキクサの生息地とは無縁の工場排水中にも、イボウキクサの増殖を促進する特定の細菌が存在することを初めて明らかにした。さらに、27AL がもつ独特の窒素代謝が、窒素が極端に不足している排水環境中でイボウキクサの成長を促進する要因のひとつであることも明らかにした。また、環境水由来の PGPB である P23 が、K-WW において増殖阻害細菌に転じる重要な要因も特定した。

新規 PGPB である、27AL を共生させたイボウキクサには生育の改善は見られたものの、そのバイオマス収量はまだ十分ではなかった。第 II 章では、排水におけるイボウキクサの成長阻害の要因をさらに特定し、排水への窒素および炭酸カルシウムの補充によって、イボウキクサの成長の回復を実現した。さらに、この成分補充によって 27AL および P23 は、格段に高いウキクサ成長促進活性を示した。以上より、排水土着の新規 PGPB の利用と部分的なミネラル補給の組み合わせが、排水環境におけるウキクサバイオマス生産を大幅に改善するための有望な方法であることを提案した。

一方、タイ工場 A-WW の屋外処理タンクでの野生ウキクサバイオマス生産の試験中に、微細藻類の異常繁殖を観察した。微細藻類の繁殖によって、おそらく栄養ミネラルの競合が原因で、ウキクサの成長は劇的に悪化した。そこで、第 III 章では、排水から発見したイボウキクサの PGPB が、微細藻類に対して逆に成長抑制作用を示す可能性を探った。クロレラ属、コエラストレラ属、デスメデスムス属、パラクロレラ属など、いくつかの真核微細藻類が排水サンプルから分離された。さらに、ミクロシスチン毒素を産生し、有害藻類ブルーム（HAB）を形成することで広く知られている原核微細藻類である、らん藻：ミクロキスチス・アエルギノーサも対象に加えて評価した。その結果、一部の PGPB は、上記微細藻類のうち、特にらん藻の成長を阻害する能力を有することが判明した。特に、27AL はらん藻によるイボウキクサの成長抑制を完全に回復した。この結果は、ウキクサと競合する微細藻類を抑止しながら、ウキクサの成長を促進する二重の機能を備えた、高機能 PGPB を土着細菌群から発見するチャンスがあることを強く示唆するものである。

総括では、食品工場排水を利用したウキクサバイオマスの生産効率の改善に寄与する優れた土着 PGPB の利用可能性を明らかにしたことと、ここで開発した共生細菌工学技術の今後の展望について論述した。審査員一同は、これらの成果を高く評価すると共に、申請者の将来性も期待し、申請者が博士（環境科学）の学位を受ける資格を有すると判定した。