



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on reconstruction of a functional duckweed holobiont to reduce nutrient competition with microalgae for high-yield biomass production [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Pham, Huyen Thi Thanh
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第16223号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95269
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	PHAM_Huyen_Thi_Thanh_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士 (環境科学)

氏 名 PHAM Huyen Thi Thanh

審査委員 主査 教授 森川 正章
副査 特任教授 福井 学
副査 教授 三輪 京子
副査 准教授 堀 千明

学 位 論 文 題 名

Studies on reconstruction of a functional duckweed holobiont to reduce nutrient competition with microalgae for high-yield biomass production
(高収率バイオマス生産に向けたウキクサホロビオントの再構築に関する研究～微細藻類との栄養競合の低減によるウキクサの成長促進)

本学位論文は、序章および5つの本章から構成されている。まず**序章**において小型浮遊性の淡水水生植物：ウキクサの特性ならびにそのバイオマス資源価値について説明した。また生育肥料として工場廃水や下水などが利用できるため低コスト生産が可能であること、さらにウキクサバイオマスの生産に伴って水質浄化できる利点についても説明し、ウキクサが低炭素産業のあらたな道具となる可能性を述べた。その一方で微細藻類が異常繁殖した場合、栄養収奪によりウキクサ生産性が激減する現状の課題を提起した。つづいてウキクサホロビオントについて説明した。ホロビオントとは、あらゆる動物や植物とそれに共存する微生物群を含めた固有の共生生態系の単位～超個体のことであり、近年、宿主生物におよぼす共存微生物群の影響の大きさが注目されている。そこで、学位申請者はこのホロビオント微生物群からウキクサの成長を促進する細菌：PGPBと微細藻類の成長を抑制する細菌：MGIBを獲得し、さらにPGPBとMGIBとウキクサを組み合わせることによって、微細藻類の繁殖を抑えつつウキクサの成長を担保できるあらたな機能性ホロビオントの再構築に挑戦した。

第1章では、食品工場廃水処理場に自生するウキクサホロビオントを対象としてウキクサ生育条件の検討をおこない、細菌を主なターゲットとしてさまざまな培地を用いて共存微生物を網羅的に単離した。

第2章では、得られた69株のウキクサ共存細菌からPGPBおよびMGIBを探索した。具体的には、無菌化したウキクサを各細菌株の細胞懸濁液中で生育させ、細菌非存在下に比べて成長速度が大きくなる組み合わせを一次選抜した。つぎに、この選抜細菌株を無菌ウキクサにあらかじめ付着共生させたウキクサホロビオントを構築して、安定に共存しながらウキクサの成長を促進できる細菌を二次選抜した結果、4株のPGPBを獲得することに成功した。さらに、同食品工場廃水処理槽に自生する微細藻類（緑藻）の単離と無菌化をおこない、これをKC10と命名した。無菌のKC10を上記のPGPB 4株と共培養したところ、いずれもKC10の成長を抑制する効果は見られなかった。そこで改めて共存微生物群から探索をおこなった結果、KC10の成長を抑制するMGIBを2株獲得した。なおこの2株はウキクサの成長促進活性は有していな

かった。**第3章**では前章で獲得したPGPB 4株とMGIB 2株について、16SrRNA遺伝子配列を決定しデータベースと照合して細菌の属および種を決定した。さらに、植物の成長促進に関わる活性因子の生産性を調べた。その結果、PGPB 4株に加えて2株のMGIBもオーキシン（インドール酢酸）およびシデロフォアを生産することが判明した。このことからウキクサの成長促進はこれらの活性因子では説明できないと結論した。

第4章では微細藻類KC10が共存する条件下でPGPBおよびMGIBのウキクサ成長回復活性を評価した。その結果、フィルター滅菌した廃水においてPGPBとMGIBを同時に含むウキクサホロビオン트가、KC10による成長阻害を完全に抑えて、KC10などの微細藻類が存在しない状態におけるウキクサ本来の成長速度と同程度にまで回復することを発見した。以上、本学位論文は、栄養競合する微細藻類による成長阻害を回避できる機能性ウキクサホロビオン트를再構築できることを世界で初めて実証した。また**第5章**では、MGIBが生産する微細藻類成長阻害因子について検討を加えた。その結果、この因子は分子量が3,000以下であり、酢酸エチルでは抽出されないことがわかった。これまでに酢酸エチルで抽出されない微細藻類成長阻害因子は報告されていないことから新規化合物である可能性が示唆された。

以上、本学位論文の環境科学分野における進歩性ならびに波及性は十分に高いと評価し、審査員全員の合意のもと学位申請者 **Phạm, Thị Thanh Huyền** の業績は、博士（環境科学）学位を授与するに相応しいと結論した。