

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 ダマルジャヤ ドリー
イリヤニ

リンは植物の必須元素の一つである。土壌中のリンの形態は pH に左右される。リン酸は、pH が低い場合にはアルミニウムや鉄と、また pH が高い場合にはカルシウムやマグネシウムイオンと結合し、いずれも難溶態となる。そのため、土壌中の難溶性リンを可溶化して植物による利用効率を高める方策の確立が望まれている。

土壌細菌の中には、ギ酸、プロピオン酸、乳酸などの有機酸を分泌するものがある。これらの有機酸は難溶性リン化合物のアルミニウム、鉄、カルシウム、マグネシウムと結合し、リン酸イオンが可溶化して植物が吸収できる。このような土壌細菌はリン溶解細菌と呼ばれている。リン溶解細菌を土壌に接種することにより、土壌中の難溶性リンが可溶化され、作物の生産性が高まる現象が知られているが、これはほとんどの場合、アルカリ土壌で得られた結果であり、対象とされる難溶性リンはリン酸カルシウムである。これに対して、東南アジアに広く分布するアルミニウム酸性土壌については、1) 主要な土壌リンの形態がリン酸アルミニウムおよびリン酸鉄であり、これらはリン酸カルシウムよりも難溶性であること、2) 酸性条件下で溶解するアルミニウムによる毒性、のため、有効なリン溶解細菌に関する研究はほとんどなされていない。

このような背景をもとに、本研究では①植物生育促進根圏微生物として知られている *Pseudomonas putida* の難溶性リン酸塩（リン酸カルシウム、リン酸アルミニウム）溶解能力の評価と、溶解メカニズムの解析、②酸性土壌の植物根圏からのリン溶解細菌の単離・同定と植物生育促進効果の評価、③日本とインドネシアの数種の酸性土壌からのリン溶解細菌の単離・同定、リン溶解メカニズムの解析ならびに植物生育促進効果の評価、④リン酸アルミニウム溶解細菌として単離された *Gluconacetobacter* のリン溶解能とアルミニウム耐性能の評価、についての検討を行った。本論文は5章よりなる。

緒言である第1章に続く第2章では、植物生育促進根圏微生物として機能することがしばしばあり、そのリン溶解能力に興味を持たれる *Pseudomonas putida* のリン酸カルシウム、リン酸アルミニウム溶解能力の評価と、溶解メカニズムの解析を行った。*P. putida* の15株のうち9株がリン酸カルシウムを溶解した。リン酸カルシウムを溶解する *P. putida* IAM1050 株についてトランスポゾン挿入変異により1株の溶解能欠失変異株 (MPS⁻株) を取得した。MPS⁻株はクエン酸を分泌する能力を欠いており、リン酸カルシウム溶解にはクエン酸が関与していることが示唆された。トランスポゾンの挿入された周辺の遺伝子領域の解析を行い、変異の起こった遺伝子は *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 株の isopropyl malate synthase をコードしている遺伝子に高い相同性を示すことが分かった。一方、15株の全てがリン酸アルミニウム溶解能を示さなかった。

第3章では、酸性土壌の植物根圏からのリン溶解細菌の単離・同定と、植物生育促進効果の評価を行った。アルミニウム酸性土壌に生育させたクローバー、コムギ、トウモロコシ、ヒマワリの根圏土壌から、リン溶解細菌の単離を試みた。その結果、酸性耐性で、かつアルミニウム耐性のリン溶解細菌 8 株が得られた。16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列決定の結果、これらの株は *Burkholderia* (5 株)、*Pseudomonas* (1 株)、*Ralstonia* (1 株) と推定された。これらの株の全てがリン酸カルシウム溶解能を示したが、リン酸アルミニウム溶解能を示したのは 1 株の *Ralstonia* のみであった。アルミニウム酸性培地を用い、これらの単離株を接種してクローバーの生育試験を行った結果、いくつかの株では接種することにより植物の生育が促進され、地上部の乾燥重量が増加した。

第4章では、さらに溶解能力の高いリン溶解細菌を得るために、酸性土壌からのリン溶解細菌の単離・同定と、植物生育促進効果の評価を行った。日本とインドネシアの数種の酸性土壌から 7 株のリン溶解細菌が単離され、16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列から、*Burkholderia* (4 株)、*Pseudomonas* (1 株)、*Gluconacetobacter* (2 株) と推定された。2 株の *Gluconacetobacter* は特に高いリン酸アルミニウム溶解能力と酸性およびアルミニウムに対する耐性を示した。これらの株をアルミニウム酸性土壌に接種して、トウモロコシの栽培試験を行ったところ、接種することにより植物の生育が促進され、植物地上部の乾燥重量が増加した。酸性土壌から単離されたこれらのリン溶解細菌はアルミニウム酸性土壌において微生物肥料として用いられる可能性があることが示された。

第5章では、前章において酸性土壌から単離され、高いリン酸アルミニウム溶解能力を示した 2 株の *Gluconacetobacter* についてその溶解メカニズムを検討した結果、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸などの有機酸の分泌によるものであることが分かった。この 2 株の *Gluconacetobacter* と、さらに 4 株の *Gluconacetobacter* 株 (*G. diazotrophicus* PA15T, *G. hansenii* IFO13963, *G. liquifaciens* IFO12338T, *G. xylinum* LMG1527T) について、アルミニウム耐性、リン酸アルミニウム溶解能について比較した。これら 6 株の *Gluconacetobacter* は培地中の 75 mM のアルミニウムに耐性で、リン酸カルシウム、アルミニウムのいずれをも溶解する高い能力を示した。*Gluconacetobacter* はアルミニウム酸性土壌でリン溶解を目的とする微生物肥料として用いられる高い可能性を有していると考えられた。

以上、本論文はアルミニウム酸性条件下で難溶性のリン酸アルミニウムを溶解する能力の極めて高いリン溶解細菌を単離し、その溶解メカニズムと植物生育促進効果を明らかにしたものである。これは学術上重要な知見であるばかりでなく、東南アジアに広く分布するアルミニウム酸性土壌における作物生産性の向上に寄与するところが極めて大きい。よって、審査員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。