

博士（農 学） アシャラ ペングノー

学位論文題名

Functions of Phosphate-Solubilizing Microorganism in Tropical Acidic and Low Phosphorus Soils

(熱帯の酸性および低リン土壌におけるリン可溶化微生物の機能)

学位論文内容の要旨

要約

タイ南部には、硫酸酸性土壌や泥炭、ポドゾル性砂質土壌、塩の影響を受けた硫酸酸性土壌など、様々な不良環境土壌が分布しているが、これらの土壌は不毛であり、強く酸性化している。しかししながら、土着植物である *Melaleuca cajuputi* や *Melastoma malabathricum*、*Scleria sumatrensis* はこれらの土壌でもよく生育する。これらの植物の根圏および根面の菌数を明らかにするために、リン源として  $5 \text{ mg l}^{-1} \text{ P}$  の  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  を含む改良 Pikovakaya 培地(pH 4.0)上でその数を調べた。*Oryza sativa* の根圏および根面において菌数は多く、それぞれ、 $2.70 \times 10^7$  および  $1.50 \times 10^7 \text{ cfu/g}$  根だった。不良環境土壌では、リンは植物の生育において重要な役割を担っているため、リン溶出菌をターゲットとした研究を行った。リン源として  $5 \text{ mg l}^{-1} \text{ P}$  の異なるリン形態;  $\text{AlPO}_4$ 、 $\text{FePO}_4$ 、 $\text{Na phytate}$  を含む改良 Pikovakaya 培地(pH 4.0)を用いて微生物の単離を試み、この培地に生育できる 12 種類の微生物を単離した。これらの微生物は、*M. malabathricum* を除くすべての土着植物の根圏と根面の両方から単離された。この 12 種類の微生物のうち、5 種類は硫酸酸性土壌由来のものであった。16S rRNA のシーケンス解析により、単離されたこれらの微生物は *Acidocella* sp. や *Acidosphaera rubrifaciens*、*Burkholderia* sp.、*Burkholderia tropicalis*、*Cryptococcus* sp. に属していることが分かった。*Oryza sativa* の根圏および根面から単離されたものは両方とも *Cryptococcus* sp. に属していた。

単離されたすべての微生物が、 $5 \text{ mg l}^{-1} \text{ P}$  の異なるリン形態 ;  $\text{AlPO}_4$ 、 $\text{FePO}_4$ 、 $\text{Al phytate}$ 、

Fe phytate、Na phytate を含む改良 Pikovakaya 培地(pH 4.0)で生育することができた。すべての微生物培養において培地中の pH は最初の 4.00 からより酸性側(pH 3.63-2.47)に減少した。しかしながら、単離した微生物からの有機酸分泌は、その酸性化には貢献していなかった。単離された 12 種類の微生物のうち、*Cryptococcus* sp. の 3 種類；AR 101、AR 102、PM 103 は、他の微生物と比べて、生育量が著しく高く、またその培地での pH 低下も大きかった。単離された *Cryptococcus* sp. のすべてにおいて、他のものよりも 3-4 倍高い酸性ホスファターゼ活性が確認された。さらに、これらの酸性ホスファターゼ活性は、無機態リンと有機態リンの両方を含んだすべての培地において、フィターゼ活性よりも著しく高かった。単離された微生物の働きにより生成される可溶性リンの培地での濃度は非常に低かった。

Al がリン溶解菌、*Cryptococcus* sp; AR 101、AR 102、PM 103 の機能に及ぼす効果を、 $5 \text{ mg l}^{-1}$  P の異なるリン形態； $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{AlPO}_4$ 、 $\text{FePO}_4$ 、Al phytate、Fe phytate、Na phytate を含む改良 Pikovakaya 培地( $\text{AlCl}_3$  で  $0 - 10 \text{ mg l}^{-1}$  Al)を用いて明らかにした。無機態リンを含む培地、その中でも特に  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  を含む培地で、Al の添加によりこれらのリン溶解菌の生育が促進された。それとは対照的に、Al を添加した有機態リン培地では、これらの微生物の生育は抑制された。また、Al の添加により有機態リン培地の pH の上昇が見られた。すべての微生物の酸性ホスファターゼ活性は、Al を添加した無機態リン培地で上昇した。一方、有機態リン培地においては、Al の添加により AR 101 と AR 102 の酸性ホスファターゼ活性は減少した。PM 103 のフィターゼ活性は、すべての培地において他の微生物よりも低かった。Al 添加により、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  と  $\text{FePO}_4$  を含む培地における AR 101 のフィターゼ活性が高まった一方、Al 濃度が  $10 \text{ mg l}^{-1}$  になるように  $\text{AlPO}_4$  を加えた培地ではフィターゼ活性の減少が見られた。微生物の細胞へのリン蓄積量は、有機態リン培地よりも無機態リン培地で多かった。一方、微生物の細胞への Al 蓄積量は、培地の Al 濃度に依存していた。

# 学位論文審査の要旨

主査 教授 大崎 満  
副査 教授 松井 博和  
副査 教授 横田 篤  
副査 助教授 信濃 卓郎  
副査 助教授 橋床 泰之  
副査 助教授 江澤 辰広

## 学位論文題名

### Functions of Phosphate-Solubilizing Microorganism in Tropical Acidic and Low Phosphorus Soils

(熱帯の酸性および低リン土壌におけるリン可溶化微生物の機能)

本論文は、英文 101 頁、図 3、表 13、6 章かならなる。

タイ南部には、酸性硫酸塩土壌や泥炭、ポドゾル性砂質土壌、塩の影響を受けた酸性硫酸塩土壌など、様々な不良環境土壌が分布しているが、これらの土壌は不毛であり、強く酸性化している。しかしながら、土着植物である *Melaleuca cajuputi* や *Melastoma malabathricum*、*Scleria sumatrensis* はこれらの土壌でもよく生育する。これらの植物の根圏および根面の菌数を明らかにするために、リン源として  $5 \text{ mg l}^{-1} \text{ P}$  の  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  を含む改良 *Pikovakaya* 培地(pH 4.0)上でその数を調べた。*Oryza sativa* の根圏および根面において菌数は多く、それぞれ、 $2.70 \times 10^7$  および  $1.50 \times 10^7 \text{ cfu/g}$  根だった。不良環境土壌では、リンは植物の生育において重要な役割を担っているため、リン溶出菌をターゲットとした研究を行った。リン源として  $5 \text{ mg l}^{-1} \text{ P}$  の異なるリン形態;  $\text{AlPO}_4$ 、 $\text{FePO}_4$ 、 $\text{Na phytate}$  を含む改良 *Pikovakaya* 培地(pH 4.0)を用いて微生物の単離を試み、この培地に生育できる 12 種類の微生物を単離した。これらの微生物は、*M. malabathricum* を除くすべての土着植物の根圏と根面の両方から単離された。この 12 種類の微生物のうち、5 種類は酸性硫酸塩土壌由来のものであった。16S rRNA のシーケンス解析により、単離されたこれらの微生物は *Acidocella* sp. や

*Acidosphaera rubrifaciens*、*Burkholderia* sp.、*Burkholderia tropicalis*、*Cryptococcus* sp.に属していることが分かった。*Oryza sativa* の根圏および根面から単離されたものは両方とも *Cryptococcus* sp.に属していた。

単離されたすべての微生物が、 $5 \text{ mg l}^{-1}$  P の異なるリン形態；AlPO<sub>4</sub>、FePO<sub>4</sub>、Al phytate、Fe phytate、Na phytate を含む改良 Pikovakaya 培地(pH 4.0)で生育することができた。すべての微生物培養において培地中の pH は最初の 4.00 からより酸性側(pH 3.63-2.47)に低下した。しかしながら、単離した微生物からの有機酸分泌は、その酸性化には貢献していなかった。単離された 12 種類の微生物のうち、*Cryptococcus* sp. の 3 種類；AR 101、AR 102、PM 103 は、他の微生物と比べて、生育量が著しく高く、またその培地での pH 低下も大きかった。単離された *Cryptococcus* sp. のすべてにおいて、他のものよりも 3-4 倍高い酸性ホスファターゼ活性が確認された。さらに、これらの酸性ホスファターゼ活性は、無機態リンと有機態リンの両方を含んだすべての培地において、フィターゼ活性よりも著しく高かった。単離された微生物の働きにより生成される可溶性リンの培地での濃度は非常に低かった。

Al がリン溶解菌、*Cryptococcus* sp; AR 101、AR 102、PM 103 の機能に及ぼす効果を、 $5 \text{ mg l}^{-1}$  P の異なるリン形態；KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、AlPO<sub>4</sub>、FePO<sub>4</sub>、Al phytate、Fe phytate、Na phytate を含む改良 Pikovakaya 培地(AlCl<sub>3</sub> で 0-10 mg l<sup>-1</sup> Al)を用いて明らかにした。無機態リンを含む培地、その中でも特に KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> を含む培地で、Al の添加によりこれらのリン溶解菌の生育が促進された。それとは対照的に、Al を添加した有機態リン培地では、これらの微生物の生育は抑制された。また、Al の添加により有機態リン培地の pH の上昇が見られた。すべての微生物の酸性ホスファターゼ活性は、Al を添加した無機態リン培地で上昇した。一方、有機態リン培地においては、Al の添加により AR 101 と AR 102 の酸性ホスファターゼ活性は低下した。PM 103 のフィターゼ活性は、すべての培地において他の微生物よりも低かった。Al 添加により、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> と FePO<sub>4</sub> を含む培地における AR 101 のフィターゼ活性が高まった一方、Al 濃度が  $10 \text{ mg l}^{-1}$  になるように AlPO<sub>4</sub> を加えた培地ではフィターゼ活性の低下が見られた。微生物の細胞へのリン蓄積量は、有機態リン培地よりも無機態リン培地で多かった。一方、微生物の細胞への Al 蓄積量は、培地の Al 濃度に依存していた。

本研究の結果から、熱帯のリン栄養が制限された不良環境土壤に生育する植物種のリン獲得に、難

利用性リンの可溶化能を持つ根圏および根面微生物が深く関与している可能性が示唆された。本研究により得られた知見は学術的に高く評価されるとともに、不良環境土壤の農業利用や破壊された生態系の修復のために極めて有益な情報を提供するものである。よって審査員一同は、Ashara Pengnoo が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。