学位論文の審査結果の要旨

現在、リン資源の枯渇が懸念されており、リン資源の保全が世界的な課題となっている。一方、リンは湖沼の富栄養化の原因物質でもあり、欠乏と過剰の対極的な問題を抱えている。このため、農地には適切な量のリン肥料を施与する必要がある。この実施には、土壌中リンの利用性を正確に評価することが不可欠である。現在まで、土壌中のリン利用性は化学的抽出法で評価されてきたが、その限界も指摘されている。本学位論文では、土壌酵素の資源配分モデルに基づく、生化学的な土壌中リン利用性評価法を提案している。

現在広く用いられている化学的抽出法によるリン利用性の評価は、土壌型が異なると比較できないといった問題がある。そこで第Ⅰ章では、生物的なリン利用性を評価するため、微生物が栄養素獲得のために放出する細胞外酵素の活性比を用いた資源配分モデルに注目した。このモデルでは、例えば、炭素獲得系酵素であるβ-D-グルコシダーゼの活性に対するリン獲得系酵素であるホスファターゼの活性比を算出し、その値が大きければ、リン利用性が相対的に低いため微生物はよりホスファターゼ生産に資源を配分していると推定している。β-D-グルコシダーゼ活性に対する酸性及びアルカリホスファターゼ活性の比は、化学的抽出法による値および作物体リン濃度と有意な負の相関を示した。このため、細胞外酵素の資源配分モデルを用いた新たな評価法は、生物的なリン利用性の指標として有用であることが示唆された。細胞外酵素の資源配分モデルにより、土壌中リンの生物利用性を明確に評価したのは、本研究が初めてである。

第Ⅱ章では、第Ⅰ章でリン制限がみられなかった土壌の制限因子を明らかにするため、微生物のカリウム要求性について調査した。植物がカリウム制限である土壌においても、微生物はカリウム制限ではなく、炭素＞窒素＞カリウムの順に要求性が高いことが示唆された。土壌微生物のカリウムの要求性に関する研究例は極めて少なく、貴重な情報が得られている。

第Ⅲ章では、酵素活性という土壌微生物群集の機能と、その酵素を生産している微生物群集の構造、そして土壌中の栄養素利用性の三者の関係を調査した。アルカリホスファターゼ産生細菌(PhoD 生産菌)では、リン施肥を行っていないまたは非常に少ない区において、他の区と異なる群集構造を示した。またこれらの区では、β-D-グルコシダーゼ活性に対するアルカリホスファターゼ活性の比が高く、微生物はアルカリホスファターゼ生産に優占的に資源を配分している可能性が示唆された。PhoD 生産菌の多様性は、堆肥由来のリン施与量およびアルカリホスファターゼ活性と有意な負の相関を示した。このため、栄養素利用性により、それを獲得するための酵素を有している微生物群集の組成や多様性が変化するとともに、微生物群集の酵素生産への資源配分や酵素活性といった生理的側面も変化することが示された。分子生物学的手法を用いた土壌酵素生産微生物に関する研究はまだ緒に就いたばかりであり、本研究により新規な知見が得られている。

第Ⅳ章では、酵素添加法を用いて土壌中のリン利用性を評価した。植物根圏において、$NaHCO_3$ および NaOH で抽出されるフィチン酸様リンの減少が確認され、生物へのリン供給源としてのフィチン酸様リンの重要性を生化学的に実証した。フィチン酸様リンの生物利用性に関していはこれまで一致した結果が得られておらず、本研究により有用な知見が得られた。

本学位論文では、土壌酵素を用いて生物的なリン利用性を評価する方法を提案し、さらに分子生物学的手法と組み合わせることにより、土壌の栄養素利用性と微生物群集構造、

機能の関係を、従来よりさらに詳細に評価することに成功した。得られた成果は新規性に富み、学術上貢献するところが多く、博士（理学）の学位論文として価値あるものと判断した。

公表主要論文名

- Moro, H., Kunito, T., Saito, T., Yaguchi, N., and Sato, T. (2014) Soil microorganisms are less susceptible than crop plants to potassium deficiency. *Arch. Agron. Soil Sci.*, 60(12), 1807-1813.
- Moro, H., Kunito, T., and Sato, T. （印刷中）Assessment of phosphorus bioavailability in cultivated Andisols from a long-term fertilization field experiment using chemical extractions and soil enzyme activities. *Arch. Agron. Soil Sci.*, DOI: 10.1080/03650340.2014.984697.