

	サンチャゴ クリスティン ドロレス
氏 名	SANTIAGO Christine, Dolores
本籍（国籍）	フィリピン
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第連研 687 号
学位授与年月日	平成 29 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学
学位論文題目	Compatible bioinoculants for improved plant growth-promotion (植物成長促進効果のある微生物資材)
学位審査委員	主査 帯広畜産大学教授 大和田 琢二 副査 折笠 善丈(帯広 助教),上村 松生(岩手 教授),杉山 修一 (弘前 教授)

論文の内容の要旨

本研究では、*Sphingomonas* sp. T168 株（以降 T168 株）、*Methylibium* sp. R182 株（以降 R182 株）、および *Streptomyces* sp. R170 株（以降 R170 株）とのそれぞれの組み合わせによる共接種において植物の生育促進を確認した。R170 株、*Streptomyces* sp. R181 株（以降 R181 株）、および R182 株は、ジャガイモの根から分離され、T168 株はジャガイモの塊茎から単離された新規の細菌であり、それぞれ単独でも植物生育促進作用がみられたが共接種ではさらに高い効果がみられた。特に、R170 株と T168 株または R182 株との組み合わせ、菌根菌と R170 株または R182 株による共接種では植物の生長を促進する効果がみられた。特に R170 株は、植物の生育促進効果のある IAA、シデロフォア、ACC デアミナーゼ、 β -1,3-グルカナーゼ、セルラーゼ、およびプロテアーゼの高い生産量、さらに、pH、 $AlCl_3$ 、塩化ナトリウムのストレスに対する高い耐性が示された。T168 株、または R182 株と R170 株の組み合わせによる共接種の相乗効果は、インドール酢酸（IAA）とシデロフォア生産の強化と、菌根菌との相互作用に関係していることが示された。

R170 株を適合性のある Plant Growth Promoting Bacteria（PGPB）または菌根菌と共接種することによるこの相乗効果は、R170 株と T168 株または R182 株の組み合わせにおけるジャガイモ実生への局在化および相互作用に関連しており、IAA とシデロフォア産生の増強を示し、最終的に植物の生育促進を引き起こした。また、R170 株と菌根菌との共接種によって根における酸性ホスファターゼ活性の増加がみられ、菌根感染の改善に起因することが明らかになった。菌根菌の感染時における R170 株の効果は、菌根胞子発芽率の増加であることが確認された。しかしながら、他の PGPB では菌根への感染および根に関連する菌根胞子の発芽は調べることはできなかった。よって、PGPB の宿主植物への菌根と

の共存、および根に関連する菌根胞子形成についてさらに調査する必要があると考えられた。

一方、R181 株は T168 株または R182 株の組み合わせでは適合性を示さなかった。R181 株と菌根菌の組み合わせでは、ジャガイモ実生の乾燥重量の有意な減少がみられたが、T168 株、R182 株、または R170 株との組み合わせではわずかな増加がみられた。これらの結果は、R181 株と他の PGPB との相乗的相互作用の欠如に関連しており、寒天上で栽培したジャガイモ実生の観察において T168 株、または R182 株との組み合わせではこれらの菌株の局在化が抑制され、R181 株とは共存できないことが原因であると考えられた。R181 株と他の PGPB との不適合は、単接種の場合と比較して IAA およびシデロフォアの生産性の低下によって明らかとなった。R181 株と菌根菌との共接種は、無接種の対照と比較して酸性ホスファターゼおよびシデロフォアの両方の有意な増加がみられたが、菌根菌の単独の場合と比較して、酸性ホスファターゼおよびシデロフォア生成活性の低下が明らかになった。

さらに、PGPB 株は、*Rhizoctonia solani* に対する菌根の生物学的防除活性を改善することが確認された。特に、菌根菌の単接種と比較して R182 株、R170 株または T168 株と共接種した場合は、生物学的防除活性を示す阻止円の面積が有意に増加することが示された。病原体の増殖を抑制する菌根菌および PGPB の能力は、シデロフォアを産生する能力に起因していると考えられたが、PGPB 株の生物学的制御活性に関するより詳細な評価が必要である。

以上の結果は、R170 株のすぐれた生化学的特性、環境ストレス耐性、および共存可能な PGPB と菌根株との相乗効果によりジャガイモ実生の生育促進のための有望な微生物資材であることを示した。本研究の結果によって、化学肥料の使用を減らし、植物の生育を促進する有望な微生物資材の開発が期待される。

論文審査の結果の要旨

ジャガイモの塊茎や根から 4 株の植物生育促進細菌 (*Sphingomonas* sp. T168、*Methylibium* sp. R182、*Streptomyces* sp. R170、*Streptomyces* sp. R181) が単離された。本研究では、この 4 株から微生物接種菌として植物との相利共生に関連した生理・生化学的特性に優れた株 (R170) を選抜し、親和性のある菌株との組合せにより植物の生育が相乗的に促進されるが、R170 と同じ放線菌で単独では植物生育促進効果のある R180 との組合せは親和性がなく相乗効果が全く見られないことを示した。更に、菌根菌との組合せにも言及し、菌株の親和性が微生物の混合接種効果を有意に高めることを明らかにした。

1. 4 株 (T168、R182、R170、R181) の生理・生化学的性質を調べ、R170 はインドール酢酸 (IAA)、シデロフォア、ACC デアミナーゼ、 β -1,3-グルカナーゼ、セルラーゼ、及びプロテアーゼの生産能が最も高く、pH や塩化アルミニウム、塩化ナトリウムに対する耐性

能も高いことから、微生物接種菌として最も優れていることを明らかにした。

2. ジャガイモ実生の生育への影響を調べた結果、4株全てに生育促進効果を認めた。次に、各菌株の組み合わせで混合接種を行い、ジャガイモ実生の生育効果を調べた結果、R170とT168、R182との組み合わせは生育を相乗的に促進するが、R181との組合せでは相乗効果はないことを示し、R170の有用性は混合接種により更に向上することを明らかにした。

3. 相乗効果のある組合せ (R170とT168, R182) では、IAAとシデロフォア生産能が有意に高まるが、相乗効果のない組合せ (R181とT168, R182) ではそれらの生産能は向上しないことを示した。更に、植物組織の局在性を調べた結果、相乗効果のある組合せでは共存できるが、相乗効果のない組合せでは共存できないことを示し、相乗効果はIAAやシデロフォア生産能の向上と植物組織における共存の結果であると結論付けた。

4. 4株と菌根菌との組合せでジャガイモ実生の生育への影響を調べた結果、菌根菌とR170またはR182との混合接種でも生育促進効果を認めた。菌根菌とR170との混合接種により向上した根の酸性ホスファターゼ活性と菌根胞子発芽率が菌根感染の改善に起因すると結論付けた。一方、菌根菌とR181との組み合わせではジャガイモ実生の生育促進効果はなく、酸性ホスファターゼ活性が向上しないことを示し、R170は菌根菌との混合でも有用性が高いことを明らかにした。

これらの結果は、R170の微生物接種菌としての優れた特性を明らかにするとともに、親和性のある細菌との混合によりその効果が相乗的に増大する新たな知見を加えた。以上により、本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

Santiago, C.D., Yagi, S., Ijima, M., Nashimoto, T., Sawada, M., Ikeda, S., Asano, K., Oriyasa, Y., and Ohwada, T. (2017). Bacterial compatibility in combined inoculation enhances the growth of potato seedlings. *Microbes and Environments*, 32(1) <http://doi.org/10.1264/jsme2.ME16127>