

学位論文審査の結果の要旨

氏名	PURI RAMESH RAJ
審査委員	主査 井藤 和人 (印) 副査 児玉 基一朗 (印) 副査 横山 和平 (印) 副査 上野 誠 (印) 副査 門脇 正行 (印)
題目	STUDY ON CHARACTERIZATION OF ENDOPHYTIC BACTERIAL COMMUNITIES IN SWEET POTATO (<i>Ipomoea batatas</i>) CULTIVATED IN DIFFERENT CLIMATIC CONDITIONS (異なる気候条件下で栽培されたサツマイモ(<i>Ipomoea batatas</i>)の内生細菌群集に関する研究)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>本研究は、ネパールの異なる気候条件下で栽培したサツマイモの内生菌を分離し、それらの群集構造と気候条件との関係および植物への成長促進効果を明らかにすることを目的とした。さらに、気候条件が異なる3地点の土壌を用いて、それぞれ3地点でサツマイモを栽培することにより、気候および土壌がサツマイモ内生菌の群集構造に与える影響を培養法と非培養法を用いて明らかにしたもので、その成果は以下の様に要約される。</p> <p>現在までにネパールのサツマイモの内生菌に関する情報はないことから、本研究では、ネパールの異なる気候条件下で栽培したサツマイモの内生菌の微生物群集を調べ、さらに、分離した内生菌を栽培地点ごとに混合接種し、それらの植物への成長促進効果を明らかにすることを目的とした。ネパールの気候条件の異なる12ヵ所で栽培したサツマイモをサンプルとして集め、6綱34属の243種の内生細菌を単離し、それらの中で優占種はBacilliとγ-Proteobacteriaであったが、それらの綱レベルでの群集構造は気候条件と無関係であることを明らかとした。分離した内生菌の57%がIAA生産能を持っていたのに対し、nitrogen fixing gene (<i>nifH</i>)とアセチレン還元活性(ARA)を持つ菌株は5%であり、植物病原細菌に対する生育抑制効果は6綱全ての菌株で観察されたが、真菌の病原菌に対しては<i>Bacillus</i>属の菌株のみであること、また、ペクチナーゼ活性はProteobacteriaのみで検出されたのに対し、セルラーゼ活性は5綱の細菌で検出され広く分布していることを明らかにした。さらに、分離した内生菌を栽培地点ごとに混合接種した結果、サツマイモの生重と茎長を増加させる内生菌群</p>	

集が存在することを明らかにした。

上記の結果から、気候がサツマイモの内生菌群集構成に影響を及ぼさないことが明らかとなったが、土壌と気候条件の影響が明確に区別できないことから、深川、松江、宮崎の各地点で、それぞれの土壌を用いてサツマイモを栽培することにより、気候および土壌がサツマイモの内生細菌の群集構造に与える影響を調べることを目的として実験が行われた。なお、微生物群集の解析は、培養法と非培養法を用いて行い、それらの違いについても検討された。培養法では、62のコロニーから内生細菌が単離・同定され、 γ -Proteobacteria (96%)、 β -Proteobacteria (87%)、Actinobacteria (88%) がそれぞれ深川、松江、宮崎で栽培されたサツマイモ塊根において優占していることを明らかにした。各土壌を異なる場所で使用してサツマイモを栽培した時、上記のそれぞれの場所に特徴的な細菌群が新しい場所において増加し、また、内生細菌のサツマイモ内での菌密度も栽培された場所の影響を受ける傾向にあることを明らかにした。以上の結果から、培養法で観察されたサツマイモ内生菌の群集構造は、土壌よりもむしろ気候の影響を受けることが示唆されている。

非培養法では、locked-nucleic acid PCR clamping technique と次世代シーケンス技術が用いられ、サツマイモ内の全細菌が解析された。培養法で用いたサツマイモ試料と同じものを用いて分析した結果、Proteobacteria (85%)、Bacteroidetes (6.6%)、Actinobacteria (6.3%)が優占しており、その中でも、 γ -Proteobacteria (66.3%) が最も優占していることが明らかとなった。全てのサツマイモサンプルで内生菌の群集構造は類似しており、上位 10 属の細菌が全体の 81.2%を占め、*Pseudomonas* 属が最大 (31.9%~45.0%)の優占種であること明らかとなり、一方、属レベルの群集構造は、主成分分析と Shannon 多様性指数において、サツマイモの栽培場所に影響を受けることが示唆された。培養法と非培養法の結果は大きく異なり、一部の内生菌が気候条件の影響をより大きく受けることが明らかとなったが、内生菌群集全体でも、気候が土壌よりも影響を与えることが示唆された。

サツマイモは他の作物よりも多くの窒素を吸収することでやせた土地でもよく育つことが知られているが、本研究では、その一要因と考えられているサツマイモ内生菌の群集構造に着目し、土壌や気候条件等の環境因子との関係性について明らかにした。また、分離した内生菌の植物成長促進作用についても明らかにしている。これらの成果は、微生物生態学における植物内生菌の群集構造の解明とそれに及ぼす土壌や気候等の環境要因の解明に寄与する新規な知見であり、博士（農学）の学位を与えるに十分な価値を持つものと判定した。