

学位論文審査の結果の要旨

氏名	DINESH ADHIKARI
審査委員	主査 井藤 和人 ㊞ 副査 横山 和平 ㊞ 副査 巢山 弘介 ㊞ 副査 荒瀬 榮 ㊞ 副査 児玉 基一朗 ㊞
題目	Genetic diversity and phenotypic characterization of soybean- and common bean-nodulating rhizobia in Nepalese soils in relation to biogeographical distribution
審査結果の要旨（2,000字以内）	
<p>本研究は、ネパールの広範な地域の土壤に生息するダイズとインゲンの根粒菌について、それらの遺伝的多様性および生理学的または共生窒素固定に関わる特性を、それらが生息する土壤の環境条件と関連付け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>ネパールの気候や土壤環境が異なる12地点から採取したダイズの根粒から計102菌株のダイズ根粒菌を単離し、16S rDNA、16S-23S rDNA ITS領域、<i>nodC</i>および<i>nifH</i>遺伝子の部分塩基配列に基づいて近縁種を特定し、さらに、遺伝的多様性を評価した。その結果、単離したダイズ根粒菌が43株の <i>Bradyrhizobium japonicum</i>、38株の <i>Bradyrhizobium elkanii</i>、16株の <i>Bradyrhizobium yuanmingense</i> および5株の <i>Bradyrhizobium liaoningense</i> に分類されること、および、それぞれの種の分布は気候と土壤 pH によって異なり、温帯地域では <i>B. japonicum</i> が大半を占め、亜熱帯地域では、酸性土壤で <i>B. elkanii</i> が、弱酸性土壤では <i>B. yuanmingense</i> が、また、弱アルカリ性土壤では <i>B. liaoningense</i> が優占していることを明らかにした。</p> <p>ネパール土壤から単離された4種のダイズ根粒菌の地理的分布が、気候と土壤 pH に依存していることが示唆されたため、いくつかの地点から選んだ優占種と非優占種のそれぞれの代表株について、異なる温度および pH で、液体培養における増殖特性を比較した。その結果、<i>B. japonicum</i>、<i>B. elkanii</i>、<i>B. yuanmingense</i> 株の異なる温度および pH 条件下における増殖特性は、異なる気候および土壤 pH での優占性を反映していないこと、さらに、各種根粒菌株のダイズにおける根粒形成および窒素固定活性は、それぞれの菌株の圃場での優占性と関係しないことを明らかにした。</p>	

これらの理由として、根粒菌の性質が自由生活型と共生成立下で大きく異なること、および、ダイズの栽培条件が圃場と人工気象器で異なることを推察した。

次に、ネパールの気候と土壤環境が異なる7地点のインゲン栽培圃場から採取した土壤を用いて63菌株のインゲン根粒菌を単離し、それらの16S-23S ITS領域、16S rDNA、*nodC*および*nifH*遺伝子の部分塩基配列に基づき、それらの遺伝的多様性を評価した。単離菌株を33株の*Rhizobium leguminosarum*、14株の*Rhizobium etli*、9株の*Rhizobium phaseoli*および7株のこれまでに知られていない*Rhizobium*系統に分類し、最も優占していた*R. leguminosarum*が東西にまたがる温帯地域の4地点に、*R. etli*が温帯地域西部の2地点に、*R. phaseoli*と未知の*Rhizobium*系統がそれぞれ亜熱帯地域の1地点に分布していることを明らかにした。

インゲン根粒菌は、主に分離地点に依存して9クラスターのITSタイプに分類され、*nodC*および*nifH*遺伝子の遺伝子型に基づくと、すべての菌株がsv. *phaseoli*に属し、それらはさらに3つの異なる共生遺伝型に分類され、それぞれ地理的に異なる地域に分布していることを明らかにした。さらに、ネパール土壤から単離したいくつかのインゲン根粒菌の接種効果を調べたところ、すべての供試菌株はインゲンに根粒を形成し、窒素固定を行ったが、窒素固定効率は中性条件下で最も高く、それぞれの菌株が単離された土壤のpHでは低かったことから、生息場所の環境条件が窒素固定活性には反映しないことを明らかにした。

ネパール土壤でのダイズ根粒菌の多様性を評価した報告はいくつかあるが、本研究ではこれらの多様な遺伝子型と環境因子との密接な関係を明らかにした。さらに、ネパール土壤におけるインゲン根粒菌の多様性を初めて明らかにし、さらにそれらの異なる遺伝型のインゲン根粒菌による根粒内優占性と環境因子との関係を明らかにした。これらの根粒菌の生理学および共生に関わる特性の違いでは、ネパールの異なる環境下における根粒内優占性を説明できなかったが、ネパールの様々な環境に適切な接種菌株を提供するための有用な情報を提供した。これらの成果は、微生物生態学における根粒菌の遺伝的多様性の解明と根粒内優占性に及ぼす土壤環境要因の機構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。