

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Nguyen Thi Minh
審査委員	<p>主査 横山 和平 ㊞</p> <p>副査 藤井 克彦 ㊞</p> <p>副査 井藤 和人 ㊞</p> <p>副査 田中 秀平 ㊞</p> <p>副査 山本 定博 ㊞</p>
題目	Diversity of rhizobia isolated from nodules on different soybean cultivars in a field and their multiple occupancy (圃場で栽培した異なるダイズ品種から単離した根粒菌の多様性と多重感染)
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>本研究は、圃場で栽培したダイズの根粒を形成するダイズ根粒菌相の多様性と単一あるいは多重感染根粒の形成の機構について研究したものであり、その内容は以下のように要約される。</p> <p>山口県農林総合技術センターの圃場で栽培中のダイズ2品種(九州151とサチユタカ)の根粒から純粋分離したダイズ根粒菌を、表現形及び分子生物学的特徴を用いて分類・同定した。ダイズ根粒菌として知られる <i>Bradyrhizobium japonicum</i> と <i>Sinorhizobium (Ensifer) fredii</i> が根粒形成に関与しており、16S ribosomal RNA 遺伝子及び Internal Transcribed Spacer 配列(以下、ITS)のPCR-制限断片長多型(RCR-RFLP)を標準菌株と比較した結果、<i>B. japonicum</i> では Bj I, Bj II, Bj III を、<i>S. fredii</i> では Sf I, Sf II, Sf III 遺伝子型を同定するとともに、これら以外に Bj IV, Sf IV 及び Sf V の各遺伝子型を見出した。九州151は、<i>B. japonicum</i> 中心の非常に単純な根粒菌相を示し、調査した全ての根粒からは、それぞれ単一の表現形・遺伝子型グループしか得られなかった。これに対し、サチユタカ根粒からは、多様な表現形・遺伝子型の根粒菌が得られるとともに、異なるグループの根粒菌株が一根粒から複数分離されたことから、多重感染が高頻度で起こっていることを明らかにした。サチユタカからの分離株の60%は <i>S. fredii</i> で、その75%は、多重感染根粒から得られた。また、多重感染は、同一種内よりも <i>B. japonicum</i> と <i>S. fredii</i> 間で形成される場合が多いが、特定の組み合わせは無いことを明らかにした。これらから、<i>S. fredii</i> は、他の遺伝型の根粒菌と根粒内で共存する能力が高いと推察した。</p> <p>九州151及びサチユタカへ、それぞれの品種から得た代表的な純粋分離株の混合液を接種後、形成された根粒から根粒菌を再分離して感染様式を検討した。この際、対照としてダイズ根粒菌のUSDA株の混合液を使用した。第1回目の実験では、ダイズ品種や根粒菌混合液の組成と無関係に <i>B. japonicum</i> の特定の遺伝子型による根粒形成が卓越し、大部分が単一感染だった。第2回目の栽培実験ではこれとは異なり、USDA株あるいはサチユタカ単離株混合液のどちらを接種した場合でも、両ダイズ品種から多様な遺伝子型の根粒菌が接種相対密度に依存した割合で再分離された。再分離株中の <i>S. fredii</i> 株の出現割合と多重感染の形成割合に正の相関を見出し、逆に、単一感染の <i>B. japonicum</i> 株の割合が低下することを明らかにした。九州151は Rj4、サチユタカは non-Rj 品種であるが、高頻度の多重感染形成はダイズ Rj 遺伝型よりも、接種菌液中のダイズ根粒菌群の遺伝子型の相対密度や菌液中の根粒菌間の競合等に強い影響を受けることを明らかにした。</p>	

山口県農林総合技術センターの圃場より得た、九州151、サチユタカを含む15品種のダイズの根粒から根粒菌を単離し、表現形と ITS 配列の RCR-RFLP 解析に基づきグルーピングした。この結果、どの品種にも複数のグループの根粒菌が感染していたが、Rj4 型の九州151とフクユタカが Bj I あるいは Bj IV 型を中心とした比較的単純な構成だったのに対し、サチユタカ等いくつかの品種では非常に複雑で多重感染頻度も高いことが明らかとなった。全体として *S. fredii* 株の出現頻度と、ダイズ品種ごとに算出した感染根粒菌の多様性指数との間には正の相関関係がみとめられた。このことから、感染根粒菌の多様性は、*S. fredii* 株の出現頻度と多重感染根粒の形成割合の相乗効果で説明できることを示した。

本研究は、同一圃場においても根粒を形成する根粒菌の遺伝子型と多重感染の形成頻度が、ダイズの品種ごとに大きく異なることを明らかにした。さらに、感染根粒菌の種あるいは遺伝子型構成は、根圏のダイズ根粒菌数、種・遺伝子型構成及び根粒菌間の競合に依存することを明らかにした。加えて、圃場レベルでは、ダイズ品種と根粒菌間に親和性が発現する可能性があると考えられ、これらの要因が相乗的に働き感染根粒菌相が決定されると推察した。本研究で明らかになったダイズ品種間の感染根粒菌の多様性と多重感染形成の変動の機構は、タンパク質あるいは油脂資源としてのダイズの安定的多収技術の確立の上で重要な知見であり、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。