

## 学位論文審査の結果の要旨

### Summary of Doctoral Dissertation Examination

氏 名/Name	Md Hafizur Rahman Hafiz															
審査委員 Examining Committee	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Chief Examiner 主 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">井藤 和人</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">木原 淳一</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">横山 和平</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">上中 弘典</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">門脇 正行</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> </table>	Chief Examiner 主 査	井藤 和人	(印)	Assistant Examiner 副 査	木原 淳一	(印)	Assistant Examiner 副 査	横山 和平	(印)	Assistant Examiner 副 査	上中 弘典	(印)	Assistant Examiner 副 査	門脇 正行	(印)
Chief Examiner 主 査	井藤 和人	(印)														
Assistant Examiner 副 査	木原 淳一	(印)														
Assistant Examiner 副 査	横山 和平	(印)														
Assistant Examiner 副 査	上中 弘典	(印)														
Assistant Examiner 副 査	門脇 正行	(印)														
題 目 Title	<p style="text-align: center;">LATITUDINAL CHARACTERISTIC NODULE COMPOSITION OF <i>Bradyrhizobium</i> spp. AFFECTED BY THEIR TEMPERATURE-DEPENDENT PROLIFERATION IN SOIL AND INFECTION (ダイズ根粒菌の温度依存的な土壤中の生息と感染に影響を受ける緯度特異的な根粒内組成)</p>															
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内) /Summary of Doctoral Dissertation Examination (Within 1200 words)</p> <p>本研究は、主要なダイズ根粒菌である <i>Bradyrhizobium japonicum</i> と <i>B. elkanii</i> の栽培地点における温度に依存した根粒内分布特性について、根粒菌の土壤中での生存性とダイズへの感染性のどちらがより影響するのかを異なる気候条件の野外圃場と実験室内でのダイズの栽培実験により明らかにしようとしたもので、その成果は以下の様に要約される。</p> <p>栽培圃場の気候条件下におけるこれらの要因の寄与について調べるために、温帯大陸性気候の深川(北海道)および湿潤亜熱帯気候の松江と宮崎の3地点を選択した。各土壤サンプルを他の地点に輸送し、3地点でそれぞれ3種類の土壤を使用してダイズ品種オリヒメ(非Rj型)を栽培後に、それぞれ無作為に選択した根粒から根粒菌を分離し、16S rRNA および 16S-23S rRNA ITS 遺伝子の塩基配列から <i>Bradyrhizobium</i> 属細菌の系統的特徴および根粒中における分布を明らかにした。</p> <p>本研究では、2種類の <i>B. japonicum</i> (Bj11 と BjS10J) と1種類の <i>B. elkanii</i> (BeL7) が分離され、Bj11 と BjS10J はそれぞれ ITS 遺伝子の塩基配列に基づいて系統的に2つ (Bj11-1-2) と4つのクラスター (BjS10J-1-4) に分類された。Bj11-1 は増殖が遅く、主に深川土壤で分離されたのに対し、Bj11-2 は増殖が速く、深川土壤と松江土壤で分離された。BjS10J に関しては、BjS10J-1 と BjS10J-3 は松江土壤に由来し、BjS10J-2 と BjS10J-4 は主に宮崎土壤から分離された。一方、BeL7 はすべての土壤に遍在していた。</p> <p>深川土壤では、深川で Bj11-1 がダイズ根粒で87%と優占し、松江(80%)と宮崎(83%)でダイズを栽培してもその優占性は変化しなかったことから、Bj11-1 が深川土壤で優占しているために、根</p>																

粒で優占したことが示唆された。宮崎土壌では、宮崎で BeL7 がダイズ根粒で 77%と優占したが、深川（13%）と松江（33%）では減少し、BjS10J-2（53-73%）と BjS10J-4（13%）が増加したことから、宮崎土壌ではそれらの根粒菌が生息し、BeL7 の温度依存的な感染により、BeL7 が根粒で優占していることが示唆された。松江土壌では、松江と宮崎で BeL7 が優占（70～73%）し、Bj11-2（17～20%）が検出されたが、深川では、Bj11-1（17%）と BjS10J-3（13%）が増加し、BeL7 は 53%に減少したことから、BeL7 の土壌での優占と温度依存的な感染の両方の要因が根粒菌の組成に関与していることが示唆された。

深川と宮崎で特徴的であったダイズ根粒菌の根粒内組成の要因を解明するために、それぞれの土壌と地点から分離した根粒菌株（深川：Bj11-1、Bj11-2 および BeL7、宮崎：Bj10J-2、Bj10J-4 および BeL7）を用いて、異なる温度における *Bradyrhizobium* 属菌の増殖特性と感染における競合関係について検討された。液体培地における *B. japonicum* 4 株と *B. elkanii* 2 株の増殖至適温度は、それぞれ 15～20℃および 25～35℃と温度に依存した種特異的な増殖特性が示された。競合的感染実験では、各組合せの菌株を滅菌パーミキュライトに接種した後、表面滅菌したダイズ種子を播種し、20/18℃および 30/28℃（16/8 時間、明/暗）に設定した人工気象器で 3 週間栽培された。深川株では Bj11-1 と BeL7 がそれぞれ低温条件と高温条件で栽培したダイズの根粒で優占し、宮崎株では BjS10J-2 と BeL7 がそれぞれ低温条件と高温条件で栽培したダイズの根粒で優占したことから、温度に依存した種および菌株に特異的な根粒形成が示された。

深川土壌では、高温条件で *B. japonicum* (Bj11-1 および 2) よりも増殖および根粒形成能が高い *B. elkanii* BeL7 が、松江および宮崎で栽培したダイズの根粒中に出現しなかったため、*B. japonicum* が深川土壌で優占的に増殖していること、また、Bj11-1 は Bj11-2 よりも根粒形成能が高いことが示唆された。宮崎土壌では、BeL7 が根粒で優占していたが、深川と松江では BjS10J-2 と BjS10J-4 が優占したため、*B. japonicum* と *B. elkanii* の両者が宮崎土壌には生息し、BeL7 が温度依存的な感染のために根粒で優占していることが示唆された。

本研究では、*B. japonicum* と *B. elkanii* の栽培地点における温度に依存した種特異的な根粒内分布の要因について、異なる気候の野外圃場と実験室内でのダイズ栽培実験により、それぞれの土壌によりその要因が異なることを明らかにした。これらの成果は、土壌微生物学におけるダイズ根粒菌 *B. japonicum* と *B. elkanii* の温度に依存した根粒内分布の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。