

氏名	長島 由季
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第3663号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	アクチノリザル植物共生フランキアの宿主領域と類縁関係に関する研究
論文審査委員	教授 笹川 英夫 教授 田原 誠 准教授 山本 幹博

学位論文内容の要旨

本研究では、(1) 日本に自生するアクチノリザル植物根粒からフランキア菌株を再分離し、フランキア菌株の形態的、生理的な特徴を明らかにすること、(2) 分離フランキア菌株の宿主領域を接種試験によって明らかにすること、(3) 分離フランキア菌株の類縁関係を16S rDNAの塩基配列から明らかにすること、さらに(4) フランキア菌株のRFLP解析による識別同定法を開発し、それら菌株の感染性と自然条件下における感染フランキア菌株の多様性について調査することを試みた。得られた結果は以上のようであった。

(1) アクチノリザル植物根粒からEma2株とMru10, 11, 12, 13株を分離した。Ema2株および既分離6株の全てで孢子嚢が観察され、ベシクル様形態はAsi1, Mru2株を除く5菌株で観察された。また弱いながら単生状態でアセチレン還元活性が測定された。

(2) 分離7菌株の根粒着生率と窒素固定活性から、Ceql株はモクマオウにのみ有効な菌株、Asi1, Ahi1, Mru1, 2, 8株はハンノキ属植物とヤマモモの両方に有効な菌株、Ema2株はグミ科とヤマモモに有効な菌株であることが明らかとなった。

(3) 16S rDNA配列に基づく系統解析の結果、7菌株は2つの大clusterに分けられた。cluster 1はさらに2つのsubcluster, 1a, 1bに分類され、Asi1, Ahi1, Mru1, Mru2, Mru8株は1aに属し、Ceql株は1bに属した。Ema2株はcluster 2に分類された。この類縁関係と宿主領域とは良く一致するようであった。

(4) 制限酵素Hae IIIとSau 3A Iを用いたnifD-K IGS領域のRFLP解析によって、分離源植物を異にする5菌株 (Ceql, Asi1, Ahi1, Mru, Ema2株) が識別できた。それら菌株を単独接種して形成された根粒の感染フランキアも識別でき、このRFLP解析はフランキアを識別同定するのに有効な手段であると考えられた。さらに、混合接種したハンノキ属植物、マルバグミの根粒内感染菌を調べた結果、ハンノキ属植物にはAhi1株が、マルバグミにはEma2株が高い感染性を持つ菌株であることが明らかとなり、自然条件下においてもハンノキ属植物、グミ属植物にはそれぞれAhi1株、Ema2株が優先的に感染する主要な菌株であることが示唆された。

以上、本研究において得られた成果は、今後多様な環境に適応できるアクチノリザル植物-フランキア共生系構築の上で有用な知見となる。

論文審査結果の要旨

フランキアと共生するアクチノリザル植物は環境ストレス耐性に優れたものが多く、荒廃した環境の修復に広く活用されている。本研究では、様々な環境ストレスに対応できる有用な共生系の構築を目的に、フランキア菌株の分離、菌株の形態的、生理的な特徴、菌株の宿主領域、菌株の類縁関係、菌株の簡便な識別法の開発、菌株の感染性と自然条件下における多様性等について調査したものである。

マルバグミとヤマモモから新たな菌株を分離し、既分離菌と合わせて、それらの生育・形態および生理的特徴を明らかにした。4属5種の植物根粒から分離された7菌株について接種試験を行い、Ceq1株はモクマオウにのみ有効な菌株、Asi1, Ahi1, Mru株はハンノキ属植物とヤマモモに有効な菌株、Ema2株はグミ科とヤマモモに有効な菌株であることを明らかにした。16S rDNA配列に基づく系統解析の結果、7菌株は2つの大cluster分けられ、cluster 1はさらに2つのsubcluster, 1a, 1bに分類された。この16S rDNAに基づく菌株の類縁関係と宿主領域に基づく菌株の分類分けとは、良く一致するという興味ある知見を得た。さらに、2種の制限酵素*Hae* IIIと*Sau* 3A Iを用いて*nifD*-K IGS領域のRFLPを行うと、分離源植物を異にする5菌株（Ceq1, Asi1, Ahi1, Mru, Ema2株）が識別できることを見出し、この方法で根粒の感染フランキアも識別できることから、混合接種したハンノキ属植物にはAhi1株が、マルバグミには Ema2株が高い頻度で感染することを明らかにした。また、自然条件下で生育する植物根粒のRFLP解析より、両菌は自然条件下においても優先的に感染する菌株である可能性が高いことを見出した。

以上のように、本研究は多様な環境に適応できるアクチノリザル植物-フランキア共生系を構築する上で、多くの有用な知見と解析のための基礎技術を提供したものであり、審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位に十分値すると判断した。