

## 根粒菌のゲノム生態学的研究

佐伯雄一（宮崎大学農学部）

ダイズ根粒菌は、宿主ダイズとの細胞内共生を通じて窒素固定能を示し、ダイズの窒素栄養に大きく貢献している。根粒菌の中には窒素固定能の高い有用根粒菌が存在し、古くから農業利用が期待されている。しかし、有用根粒菌を人工的に種子接種しても土着根粒菌との競合のため根粒占有率を上げることは困難であり、有効な農業技術として確立できていないのが現状である。そのため、根粒菌生態を把握した上で、有用根粒菌の活用を図ることが重要である。本研究では、生理生態学的な視点で根粒菌生態を明らかにし、農業技術として応用することを目的に研究を進めている。

1) 分類基準の明確化: ダイズ根粒菌には、*Bradyrhizobium* 属と *Sinorhizobium* 属が知られており、日本には主に *B. japonicum*, *B. diazoefficiens*, *B. elkanii* が優占して存在している。根粒菌のような同属同種の分類において 16S rRNA gene のような保存性の高い領域は分解能が低く、他のターゲット領域が有効とされる。そこで、16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer (ITS) 領域の多型に着目し、血清型基準株を元に根粒菌の ITS 領域の多型による分類法を確立した。近年では、他の house-keeping gene も解析対象として根粒菌のより詳細な分類法の開発を進めている。

2) 温度の影響: 日本、アメリカは国土の緯度が類似しており、アメリカ東部の気候は日本と類似している。そこで、両国の北から南まで様々な地域の土壌を採取し、ダイズ栽培後、着生根粒から根粒菌を分離し、ITS 領域の多型解析を行った。その結果、ダイズ根粒菌は北から南に、*B. japonicum* USDA123, *B. diazoefficiens* USDA110, *B. japonicum* USDA6, *B. elkanii* USDA76 の各クラスターに属する株が優占することが明らかとなり、地理的に離れていても、緯度に沿った根粒菌群集構造の変遷について共通性を見出した。その理由の一つとして根粒形成遺伝子の温度依存的発現の菌株間差を見出した。これらの結果は根粒菌の地理的分布に温度が重要な環境因子として作用していることを示している。

3) 土壌 pH の影響: 沖縄やベトナムのアルカリ性土壌と酸性土壌を解析し、弱酸性土壌から中性土壌

には *Bradyrhizobium* 属ダイズ根粒菌が、pH8付近よりアルカリ性の土壌には *Sinorhizobium* 属ダイズ根粒菌が優占化していることを見出し、土壌 pH による土着根粒菌の差異を明らかにした。この現象は塩類集積土壌についても同様に認められており、塩類集積や pH の上昇などの土壌環境の化学的変化が根粒菌の種類による土着化・優占化の差異に大きな影響を与えることを示している。

4) 湛水の影響: 日本国内のダイズ栽培の8割は転換畑で行われている。根粒菌の地理的分布を解析した結果、土壌のタイプによって占有化している根粒菌のゲノム多型の違いを見出した。すなわち、灰色低地土のような水田として用いられてきた土壌でダイズ栽培を行うと *B. diazoefficiens* 根粒菌が多く感染する。*B. diazoefficiens* USDA110 株は、硝酸から亜硝酸、NO、 $N_2O$ 、 $N_2$  へと還元する全ての酵素を有し、完全脱窒能を示す。一方で *B. japonicum* や *B. elkanii* は不完全脱窒能をしめす。このため、比較的長期間還元的な環境に曝されてきた土壌には完全脱窒能を示す根粒菌が優占化していると考えられる。一方、酸化条件が長期間続くと、*B. japonicum* や *B. elkanii* が優占化することも見出した。これらの結果は、水田と畑を交互に転換する田畑輪換の作付体系が、亜酸化窒素放出の低い環境保全型ダイズ栽培へ繋がる可能性を示唆している。

本研究では、以上の根粒菌生態学的知見の他、ダイズの根粒着生調節遺伝子による感染根粒菌群集構造の変化などを明らかにしてきた。今後、根粒菌生態学的知見や宿主ダイズとの親和性などの詳細な解明を通じて土壌管理と根粒菌生態の関係も明らかになるものと期待している。有用根粒菌として知られる *B. diazoefficiens* 株の高い共生窒素固定能を効果的に発揮させることによってダイズ収量増を図るだけでなく、完全脱窒能によってダイズ根圏からの  $N_2O$  ガスの発生を抑制することが可能となる。今後、菌株特有の生態的特徴と機能を利用して根粒菌群集構造をコントロールすることが可能になれば、生産現場において有用根粒菌の接種資材や定着技術の開発を通じて、環境保全型持続的ダイズ栽培技術の発展に繋がるものと期待される。