

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 ヴェルナンス ヴェスティル
パウティスタ
Vernans Vestil Bautista

フィリピンは豊富な微生物多様性を産出する農業国である。農業上最も重要な微生物の一つは窒素固定細菌 *Rhizobia* であり、それは植物生産のために土壌へ肥沃さを供給するという利点がある。しかし、フィリピン国内の根粒菌の分類学的研究はまだ十分とは言えない。マメ科植物と細菌の種多様性の豊富さ、環境の違いから、根粒菌の新種が見出される可能性は十分あるものと考えられる。このように、フィリピン根粒からの分離株の分類学的研究を行うことは、それらの分離株について分類学的に正しい位置付けを行うために、ひいては新規の細菌を見出すためにも重要である。本研究の主な目的は新しい *Rhizobiales* 目細菌を分離し、多相分類学の手法を用いて新規分離株の分類学的位置を決めることにある。今日まで *Rhizobiales* 目には 12 科 (*Rhizobiaceae*, '*Aurantimonadaceae*', *Bartonellaceae*, *Brucellaceae*, *Phyllobacteriaceae*, *Methylocystaceae*, *Beijerinckiaceae*, *Bradyrhizobiaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Methylobacteriaceae*, *Rhodobiaceae*, *Xanthobacteraceae*) が知られている。本研究は主にこれらの分類群に含まれる新属、新種の細菌を見出すことにある。

第 1 章では研究の背景と目的について述べ、第 2 章では実験材料と実験方法についてまとめた。

第 3 章ではフィリピンのマメ科植物の根粒から分離を試みた根粒菌の分離結果について述べた。48 種のマメ科植物を採集し、それらの根粒から計 411 株の細菌分離株を得た。これらの分離株について 16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列を調べ、同定を行った。分離源であるマメ科章物のうち、*Leucaena leucocephala*, *Desmodium scorpiurus* では菌種が一定でない傾向を示した。これらの植物での根粒では分離地の異なった試料の根粒から *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Ensifer* の菌種が分離された。一方、*Sesbania sesban*, *Mimosa* sp. のようなものは *Rhizobium* 属の種が主であった。*Rhizobium*, *Bradyrhizobium* は複数の植物種の根粒から同時に分離されており、このことは両属の菌種の宿主域の広さを物語っている。他のグループの細菌種は混入雑菌として分離されたものと考えられる。というのは、本研究で用いた培地は根粒菌の分離に特異的な選択培地ではないためである。また、non-rhizobia の菌種として *Amorphomonas*, *Crabtreeella*, *Devosia*, *Labrys*, *Herbaspirillum* などが分離されている。

これらの菌株の中で新規性の可能性の高い 8 株 (strains M9cR1^T, T25a^T, 56b^T, P5b^T, M30a^T, P-Ab^T, ELS-4^T, Yak96B^T) については 16S rRNA 遺伝子の全配列を調べ、系統樹を作成した。その結果、これらの株は family *Rhizobiaceae* または family *Hypomicrobiaceae* に含まれ、新種の可能性が高い株であることがわかった。これらの菌株について分類学的検討を行い、その新種記載を以下の章に記す。

第 4 章では屋久島海岸のクズの根粒から分離された菌株の同定について述べた。屋久島海岸に生育のクズ (*Pueraria lobata*) から分離した Yak96B^T 株は 16S rRNA 遺伝子塩基配列、化学分類、生理・生化学的性状に基づき、*Devosia* 属の新種 *Devosia yakushmanensis* sp. nov. と同定した。

Devosia 属は *Hyphomicrobiaceae* 科に属する。

第5章では *Pterocarpus indicus* 根粒から分離した *Rhizobiaceae* 科の新種 *Rhizobium philippinensis* について述べた。フィリピンの国木 *Pterocarpus indicus* から分離された P5b^T 株は DNA-DNA 相同性実験、生理・生化学試験、化学分類のデータに基づき、*Rhizobium* 属の新種 *Shinella philippinensis* sp. nov. と同定した。

第6章では *Desmodium* 属マメ科植物から分離された3新菌種 *Rhizobium mindanawensis*, *Rhizobium isabelanensis*, *Rhizobium orientalis* について述べた。16S rRNA 塩基配列、DNA-DNA 相同性実験、生理・生化学試験、化学分類のデータに基づいてそれぞれの分類学的位置を決定した。すなわち、*Desmodium scorpiurus* からの分離株 56b^T は *Rhizobium mindanawensis* sp. nov. と同定、*Desmodium triflorum* からの分離株 P-Ab^T は *Rhizobium isabelanensis* sp. nov. と同定、*Desmodium styracifolium* からの分離株 ELS-4^T は *Rhizobium orientalis* sp. nov. とそれぞれ同定した。

第7章ではマメ科植物 *Aeschynomene indica* の根粒から分離した新種 *Rhizobium mindorensis* について述べた。16S rRNA 塩基配列、DNA-DNA 相同性実験、生理・生化学試験、化学分類のデータに基づいて M30a^T は *Rhizobium mindorensis* sp. nov. と同定した。

第8章ではマメ科植物 *Cajanus cajan*, *Vigna radiata* から分離された新種 *Rhizobium luzonensis* について述べた。*Vigna radiata* から分離された T25a^T 株および *Cajanus cajan* から分離された M9cR1^T 株は同一の菌種に含まれ、DNA-DNA 相同性実験、生理・生化学試験、化学分類のデータに基づき、*Rhizobium* 属の新種、*Rhizobium luzonensis* sp. nov. と同定した。

第9章は 結論と考察である。

以上、本論文は新たに分離された *Rhizobiales* 目細菌の系統分類学的位置を明らかにしたもので、学術上、応用上、貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。