

日本の土着ダイズ根粒菌の分布と多様性

○佐伯雄一・相見直人・塚本証子・長友由隆・赤尾勝一郎

宮崎大・農

Distribution and diversity of indigenous soybean-nodulating rhizobia in Japan

Yuichi SAEKI, Naoto AIMI, Shoko TSUKAMOTO, Yoshitaka NAGATOMO and Shoichiro AKAO

(Fac. Agri. Miyazaki Univ.)

Key words: Bradyrhizobium, Distribution, Diversity, Japan, rDNA

【目的】ダイズ根粒菌の共生窒素固定を活用したダイズ栽培に高窒素固定能を有する根粒菌の接種が行われているが、ダイズ栽培歴のある土壌における接種効率は必ずしも高くない。その原因として土着根粒菌との競合が挙げられるが日本に土着化している根粒菌の詳細な解析例は多くない。本研究では接種効率の向上のための基礎的知見として、日本の土着ダイズ根粒菌の 16S-23SrDNA ITS 領域および 23S-5S rDNA 領域の多型解析を行い、*Bradyrhizobium* USDA strain (*B. japonicum* USDA 4, 6, 38, 110, 115, 122, 123, 124, 135, *B. elkanii* USDA 46, 61, 76, 94) との比較解析を行った。

【方法】根粒菌の分離土壌として北海道農業研究センター畑作研究部（北海道芽室）、東北農業研究センター福島研究拠点（福島県福島市）、近畿中国四国農業研究センター野菜部（京都府綾部）、宮崎大学農学部（宮崎県宮崎市）、琉球大学（沖縄県西原）のダイズ栽培歴のない土壌（pH (H₂O) 4.6-5.7）を使用した。ダイズ品種アキシロメ (non-R_j)、CNS (R_{j2}R_{j3})、フクユタカ (R_{j4}) を表皮殺菌後播種し、ガラス室で5週間栽培を行った。根粒ホモジネートからYMA培地上でシングルコロニーの分離を行い、分離菌株とした。分離菌株からDNAを抽出後、ITSプライマーで16S-23S rDNA ITS領域をPCR増幅し、*Hae*III, *Hha*I, *Msp*I, *Xsp*I 消化を行い、電気泳動パターンを解析した。これらの分離菌株のうち、*B. japonicum* USDA 110 のITS typeに分類された菌株についてはさらに23S-5S rDNAを23S-5Sプライマーで増幅し、*Hha*I, *Hinf*I, *Mbo*I, *Xsp*I消化を行い、電気泳動パターンの解析を行った。

【結果および考察】分離菌株の ITS 領域の PCR-RFLP 解析の結果、日本に土着化しているダイズ根粒菌は、北海道で USDA 123、福島で USDA 38 および USDA 110、京都で USDA 110、宮崎で USDA 6、沖縄で *B. elkanii* の出現頻度が高く、これらの菌が優先していることが示唆された。さらに福島および京都土壌から分離された USDA110 の ITS type を有する分離菌の 23S-5S rDNA の PCR-RFLP 解析の結果、その 88%は USDA110 と相同であった。以上の結果から、日本の土着ダイズ根粒菌の分布は、北から南へある一定の傾向を示しながら優先菌の変遷が起きていることが示唆された。

佐伯雄一 Yuichi Saeki : yt-saeki@cc.miyazaki-u.ac.jp