

E-051 森林-土壌相互作用系の回復と熱帯林生態系の再生に関する研究

(3) 根粒菌による窒素固定が熱帯林再生に果たす役割の研究

国立大学法人 鹿児島大学

理学部 生命化学科 内海 俊樹

〈研究協力者〉

鹿児島大学 理学部 生命化学科 阿部美紀子

理学部 生命化学科 九町健一

理工学研究科 博士後期課程 生命物質システム専攻 瀬戸山愛子

博士前期課程 生命化学専攻 飯田淳史

インドネシア インドネシア科学院生物学研究センター Titik K. Prana (PhD)

Achirul Nditasari

Dwi Wulandari

平成 17～19 年度合計予算額 5,392 千円

(うち、平成 19 年度予算額 1,645 千円)

※上記の合計予算額には、間接経費 1,245 千円を含む

[要旨] 根粒菌はマメ科植物と共生することにより、植物体内のみならず根圏土壌への窒素養分賦与の役割も果たしている。この性質により、マメ科植物は荒廃地でも比較的成長が速く、緑地再生時に先駆植物になることが知られている¹⁾。本サブテーマでは、火災焼失した森林の再生過程に根粒菌が果たす役割を検証・考察し、森林再生に有効な樹種と根粒菌の組み合わせの特定に応用出来る系の構築を目的として取り組んだ。平成 17 年度には現地調査にて、火災被害区に自生するマメ科植物の調査と着生根粒の採集を行い、平成 18 年度には、根粒内の共生菌の分離と、16S rDNA の部分塩基配列を解析し、系統解析を行い菌種の推定を行った。平成 19 年度も主に共生菌分離と解析を継続して行った。共生菌の分離は、すべての調査区で成育が確認できたアカシア (*Acacia mangium*) と、現地種である *Fordia splendidissima* の根粒を用いた。また、19 年度は最終年度であったことから、再度現地に赴き、調査区域での特に *Fordia splendidissima* の生育状況についても調査した。

研究期間終了までに解析の進んだアカシア根粒の共生菌は、*Burkholderia gladioli* LUC15 と *Streptomyces phaeopurpureus* RRL2660 に高い相同性を示し、根粒菌属とは異なる種であった。これらの株についてはさらに詳細な解析を行う必要があるが、*Burkholderia* は、木本性マメ科植物に共生する報告例がある²⁾。一方、*Fordia splendidissima* から分離した株は、16S rDNA 塩基配列に基づく系統解析を行った結果、*Paenibacillus* sp. SJH06、*Microbacterium resistens*、*Burkholderia* sp. と *Rhizobium* sp. と近縁な株であった。

19 年度に行った現地調査では、主に *Fordia splendidissima* の幼樹の根粒着生について調査した。その結果、同じ程度に成育している個体を比較したところ、重度火災被害区の HD1 区に成育していた植物のほぼ全てに根粒着生が認められ、根粒着生数も他の区域に比べ多いという結果より、HD1 区において根圏微生物の活動が活発であり、森林再生に貢献していると推測できた。

[キーワード] 共生細菌、根粒、マメ科樹木、16S rDNA、根圏細菌

1. はじめに

根粒菌とマメ科植物は、お互いに共生し、根粒菌は植物の根に形成した根粒中で大気中の窒素を固定してアンモニアに変換し、一方、宿主であるマメ科植物は、窒素固定活動のエネルギー源として光合成産物を根粒菌に提供している。この関係性が、根粒菌とマメ科植物をして、“共生”と呼ぶ所以である。マメ科植物は、根粒菌との共生窒素固定の故に、植物体そのものの栄養価値を高める他、成育中、また枯死後に至っても近傍の土壤環境の肥沃化に寄与することから、緑肥としても重要な役割を果たしており、熱帯・亜熱帯地域では圃場での利用度が特に高い。緑肥として利用される植物の多くは、草本または灌木類であるが、比較的大きく成長するマメ科木本植物においても、根粒菌と共生して大気中の窒素を固定し、その窒素固定産物を自身の栄養として利用することから、荒廃した土壤でも比較的早く成育でき、緑地や森林再生の先駆植物としての用途も多い。特にアジア・東南アジアの熱帯地方では、アカシア (*Acacia mangium*) が、成育の早さや種子の散布度の広範なことなどから、荒廃地の修復にはよく植栽されている。

2. 研究目的

本サブテーマでは、森林火災後の熱帯雨林再生過程に根粒菌が果たす役割の検証を目的として、現地調査で採集したマメ科樹木の根粒からの共生菌の分離と菌種の特定を進めた。

1998年2-3月に森林大火災で焼失したインドネシア東カリマンタン州の熱帯雨林再生過程に根粒菌が果たす役割の検証を目的として、平成17年度は、被災林のあるブキットバンキライで現地調査を行い、マメ科樹木の成育状況と着生根粒の採集を行った。また、被災の程度別に設定した各調査区の土壤を採集し、数種類のマメ科樹木の種子を播種し土壤中の根粒菌の釣菌を試みた。さらに、平成18年度、19年度は、前年の現地調査で採集した *Acacia mangium* と *Fordia splendidissima* の根粒からの共生菌分離と菌種の特定を進めた。

3. 研究方法

(1) 各調査区に成育するマメ科植物の調査と根粒採集

各区域に成育していたマメ科樹木のうち、樹高約1 m以下の若木を根ごと堀上げ、根粒着生の確認と、着生根粒が認められたものについては、写真撮影の後、根粒を摘取しシリカゲルを入れたチューブ内に乾燥保存した。この状態で、共生菌は長時間保存されることがわかっている。一方、摘取した根粒の一部は、直ちに2.5% glutaraldehyde で2時間固定し、その後70%エタノール中に保存して持ち帰り、顕微鏡観察試料とした。根粒を着生していた植物の学名については、共同研究先のインドネシア科学院スタッフの協力を得た。

(2) 各調査区の土壤へのマメ科植物植栽試験

土壤中の根粒菌を釣菌する目的で、各調査区より、任意に5ヶ所ずつ、地表下約20 cmの土壤を1-2 Kgずつ採取し、調査区毎にまとめ、ポットにいれ、熱帯・亜熱帯でよく植栽されているマメ科木本植物として、市販されている *Paraserianthes falcataria* (モルッカネム)、*Acacia mangium* (アカシア)、*Leucaena glauca* (ギンネム)、*Sesbania rostrata* (セスバニア)、*Crotalaria juncea* (クロタラリア)

の種子を播種、2-3 ヶ月間育成したのち根粒着生の有無を調べた。着生した根粒は摘取して、シリカゲルを入れたチューブ内に保存した。土壌は原則として日本に持ち帰れないため、栽培試験はインドネシア国立科学院の、Bogor の植物研究所で行った。

試験に用いた種子は、播種する前に濃硫酸にて発芽処理とともに表面殺菌を行い、十分に水洗した後、各調査区から持ち帰った土壌に播種し、植物研究所内のガラス室内で育成した。

(3) 根粒からの共生菌の分離・精製

17年度の現地調査で採集し、シリカゲルを入れたチューブ内で乾燥保存していた *A. mangium* と *F. splendidissima* の根粒を少量の滅菌水中で、数分間水和した後、0.2%次亜塩素酸 Na と 0.1% Tween 20 (界面活性剤) の混合液に 5 分間浸漬した。滅菌水で軽く洗浄した後、次に終濃度 0.03% HgCl₂、0.03% ホルマリン、35%エタノールの混合液(種子殺菌液)で 1 分間表面殺菌処理をした。その後、滅菌水で繰り返し洗浄し、少量の滅菌水中で根粒を潰した。搾汁液を、Yeast-Mannitol 寒天培地に数枚に分けて塗布し、28°Cでコロニーが出現するまで培養した。コロニーは出現の早さの順に従い、完全にシングルコロニーとなるまで、培地への塗布を繰り返して精製した。

(4) 宿主植物への接種試験

A. mangium の根粒から単離した菌株は、*A. mangium* に接種し、着生した根粒から再分離した。市販の *A. mangium* 種子を表面殺菌し、ペトリ皿に滅菌水を浸み込ませたペーパータオルを敷き、その上に無菌的に播種し、25°C、暗所でインキュベートして発芽させた。発芽から幼根が伸びるまでの間(5~7日間)、数回、新しいペーパータオルに移し替えた。幼芽を、窒素分を含まない無機塩培地をしみこませたバーミキュライトに移植し、液体培地で前培養した被験菌を滅菌水で 1×10^8 cells/mL に希釈して接種し、自然光下で約 3 ヶ月間育成した。

F. splendidissima の根粒から単離した菌株の接種試験は、無菌発芽可能な *F. splendidissima* の種子が入手できなかったため、広範な根粒菌との共生能が知られている、草本マメ科植物の、シラトロ (*Macroptilium atropurpureum*) に接種試験を行い、根粒着生する菌株をスクリーニングした。

(5) 分離菌株からの DNA 抽出

16S rDNA の塩基配列を基に、系統解析を行うために、分離・精製した菌株から全 DNA を抽出した。通常の分子生物実験に用いられる大腸菌などと違い、根粒菌を含む、土壌細菌類は莢膜多糖類が厚く、細胞が壊れにくいいため、DNA の抽出効率は高い方ではない。本実験では通常根粒菌の溶菌に用いている方法に準じて行った³⁾。

(6) 塩基配列解析

先に抽出した各菌株の DNA を鋳型に、16S rRNA の可変領域部分長、約 300 bp に相当する範囲を PCR 法にて増幅させ、DNA シーケンサーにて塩基配列を解析した⁴⁾。解析結果の塩基配列情報をもとに、データベース DDBJ を用いてホモロジー検索を行い、候補菌種を決定した。

4. 結果・考察

(1) 各調査区に成育するマメ科植物

17年度の現地調査にて、各調査区に成育しているマメ科植物を採集し、種類とサブグループ I のメンバー、およびインドネシア国立研究所のスタッフの同行を得て、各調査区に成育しているマメ科木本植物を調査した。その結果を、表 3-1、図 3-1 に示す。

表 3-1 各調査区で確認されたマメ科幼木

Plant species (Wild grown)	Sampling plot				
	HD	LD1	K1	Er	PD
<i>Fordia splendidissima</i> .	○	○	○		
<i>Parkia</i> sp.			○		
<i>Spatholobus</i> sp.					○
<i>Spatholobus ferrugineus</i> BENTH					○
<i>Acacia mangium</i> WILLD	○		○	○	
<i>Archidendron microcarpa</i>	○				
<i>Archidendron clypearia</i>		○			
<i>Derris</i> sp. *	○				
<i>Sindora leiocarpa</i> BAKER *	○				
<i>Crudia</i> sp. *	○				

* no nodule observed

調査した全区域を通じて、*Fordia splendidissima* と *Acacia mangium* が広範囲に生育していた。*Fordia splendidissima* は、大きいものでも胸高直径約 10cm、高さ 2m 程度の灌木で、調査道の路傍に幼木を多数見ることができた。一方、*Acacia mangium* は、調査拠点近くに育苗林があったことから、表土流出によりできたと思われる砂質地の Er 区には、育苗林から飛来した種子が自然発芽したものと思われる。HD1 区には、すでに 3m ほどの高さに成長した個体が数本認められ、どれも多くの種子をつけていたことから、この区域も植林等によるものではなく、種子飛来後、自然発芽、成長した個体と思われる。また、表 3-1 のマメ科植物は、*Derris* sp. を除いてすべて根粒着生が観察された。

図 3-1 調査地域の *Acacia mangium* (左) と *Fordia splendidissima* (右)

△ 根に着生している根粒

(2) 各調査区に成育する *Fordia splendidissima* の根粒着生測定

2006年2月に、サブテーマ6のEkawati等の協力を得て、調査区(HD1、LD2、K2)の周辺で生育の見られた *F. splendidissima* について、高さ25~30cmの幼樹を各調査区50本ずつ掘上げ、根に着生している根粒数、根粒着生個体率、植物体地上部と地下部の長さを測定した。根粒菌の着生率は植物体の大きさに影響される可能性があるが、採取した個体の大きさには3区画とも有意な差はなく、着生根粒数では、HD>LD2>K2という傾向を示した(図3-2)。また、根粒着生個体率はHD1区では採集したほぼ全ての個体に根粒着生が認められたが、LD2区、K2区に従い、急激に着生率が減少していた。このような違いが生じた原因として火災の被害の影響も考えられるが、採集した植物の成育環境、土壌の条件なども複合的に考察する必要がある。一般に、根圏の土壌が柔らかく、水はけがよいと、根圏に十分に空気(酸素)が供給されることになり、根粒着生に好適な条件であると言われ⁴⁾、HD1区の土壌は、そのような条件を満たしていたためとも考えられる。

さらに2年後の2007年8月にも、各調査区の自生幼木の着生根粒数を測定した。高さ20~50cm程度の根粒着生植物体はK1区周辺で74個体、LD1区周辺で90個体、HD1区周辺で75個体を採集した。1植物体の平均根粒着生数はK1区で2.20粒、LD1区で2.33粒、HD1区で3.03粒であり、2年前の調査の時と同様な傾向を示した。しかし、根粒の着生部位を調べると、主根への着生率はK1区で約20%、LD1区で約10%、HD1区では、約5%となり、主に側根に着生している結果となった(表3-2、図3-3)。これは、調査対象が木本植物であるため、年数を経るに従い、主根は木質化して、根粒は着生しなくなり、新生の側根に着生するためであろう。サブテーマ(2)の土壌中の全細菌分布の研究でも、細菌の分布は局地的な差が多く火災被害との関係が明瞭ではなかった。根粒着生率については、K1区やLD1区でも、土壌条件の違いによる差が大きく、採集場所を変えると着生率の高いこともあり、火災被災との関係を明確にするにはさらなる研究が必要であろう。

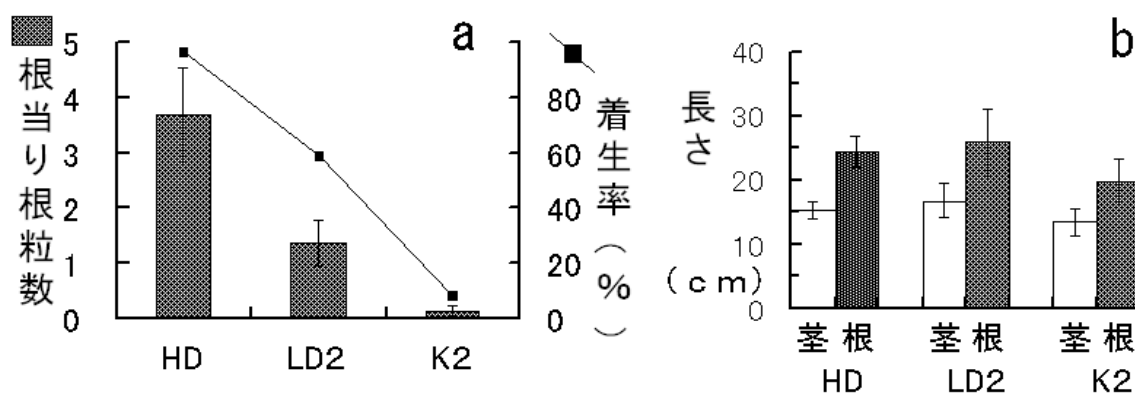


図3-2 *F. splendidissima* の1個体当り着生根粒数と調査個体中に着生個体の占める割合(調査; 2006年2月)

表 3-2 *F. splendidissima* の着生根粒数
(調査 ; 2007 年 8 月)

Sampling area	No. of Plant	No. of nodules	Nodules per Plant	Nodules on tap root
K1	74	163	2.20	18.40
LD1	90	210	2.33	8.57
HD1	75	227	3.03	5.73

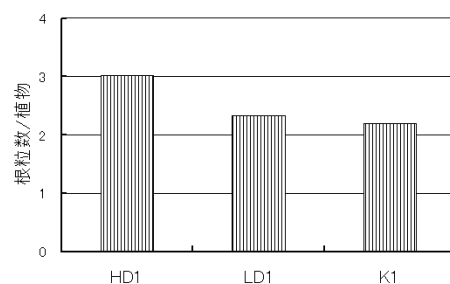
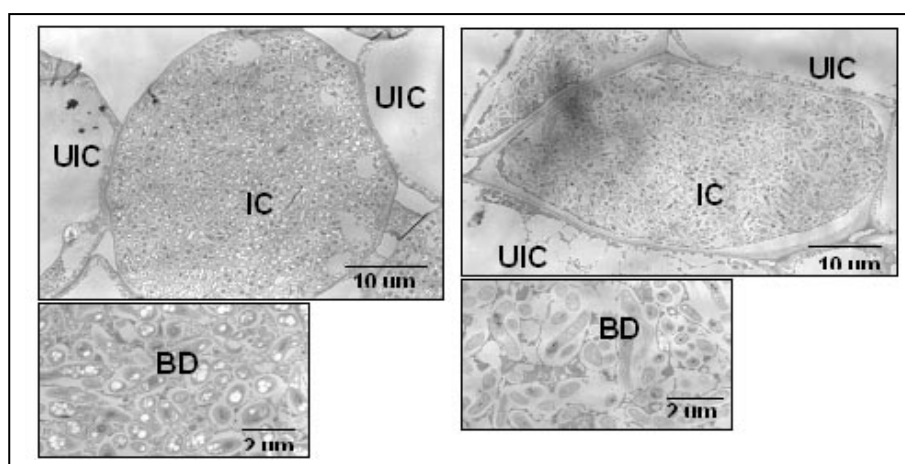


図 3-3 2007 年調査の根粒着生率

(3) 野外で採取した根粒内部の電子顕微鏡観察

現地調査中に採集した *A. mangium* と *Fordia splendidissima* の根粒の一部を、現地で固定・脱水処理を施し、帰国後に電子顕微鏡観察用試料とした。根粒は、HD1 区で採集したものを試料とした。電子顕微鏡用試料作成は既報の方法に従った⁴⁾。

観察の結果、*F. splendidissima*、*A. mangium* ともに内部構造は正常な根粒であると判断できた。根粒細胞の中に根粒菌（バクテロイド、BD）が充満している感染細胞(IC, Infected cell)の周囲には、根粒細胞内に根粒菌が認められず、液胞が発達している非感染細胞(UIC, Uninfected cell)が取り囲んでいる様子が明瞭であった(図 3-4)。非感染細胞はバクテロイドの充満した感染細胞で生成される窒素固定産物を受け取り、植物組織への移動に寄与している細胞である。また、感染細胞の内部は、複数のバクテロイド(BD, Bacteroid)がペリバクテロイド膜に包まれ、シンビオソームを形成していた。熱帯に成育する *A. mangium* の根粒内のシンビオソームは、多数のバクテロイドを包み込んでいるという報告があり⁵⁾、今回の採集試料でも根粒細胞内のバクテロイドは同様な存在様式をとっていた。一方、*F. splendidissima* の根粒細胞内のバクテロイドには、 β -ヒドロキシ酪酸の蓄積と思われる顆粒構造が顕著であった(図 3-4)。



F. splendidissima

A. mangium

図 3-4 現地で採集した根粒内部の電子顕微鏡観察
IC; 感染細胞、UIC; 非感染細胞、BD; バクテロイド

(4) 現地土壤に播種した植物の根粒着生能

P. falcataria (モルッカネム)、*A. mangium*、*Leucaena glauca* (ギンネム)、*Sesbania rostrata* (セスバニア)、*Crotalaria juncea* (クロタリヤ) の種子を、調査区から持ち帰った土壤に播種し、ボゴールの植物研究所内のガラス室内で育成した (図 3-5)。これらの中で、正常に育成したのは、モルッカネム、*A. mangium* とギンネムのみで、他の 2 種類の植物は途中で枯死した。約 2 ヶ月間育成させた後、掘り上げ、根粒着生の有無や、根粒の着生場所、根系の発達程度等について調査した。その結果、*A. mangium* は、HD1 区と、Er 区でのみ多数の根粒が着生しており、LD1 区、K1 区の土壤に植えたものでは根粒の着生は認められなかった (表 3-3)。根粒の着生位置は、主に側根であった。また、モルッカネムは Er 区の土壤でのみ、側根に多数の根粒着生が確認でき、他の区域の土壤に播種したポットからは、根粒の着生した個体は認められなかった。一方、ギンネムは、Er 区に植えたものは枯死したが、他の調査区の土壤に植えたものは、育成はしていたものの、根粒着生は認められなかった。以上の結果は、火災被害地の HD1 区や土壤浸食地 ER の土壤には、*A. mangium* とモルッカネムに共生する根粒菌は存在しているが、LD1 区や K1 区では、存在していないか、または、存在していても密度が低いのではないかと考えた。*A. mangium* とモルッカネムに着生した根粒は、シリカゲルチューブ中に保存した。残念ながら、野生ではどの調査区にも育成していた *F. splendidissima* は、発芽可能な種子が入手できず、植栽試験は実施できなかった。

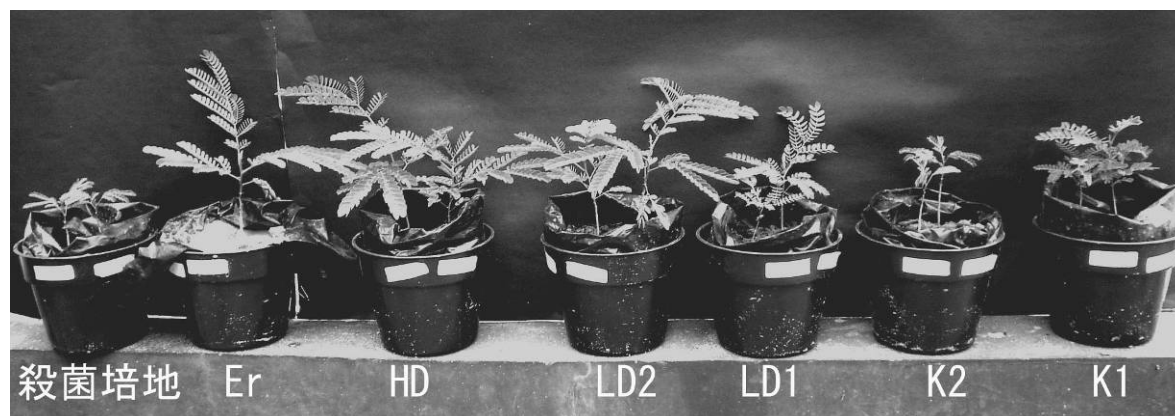


図 3-5 ブキットバンキライ調査区の土壤への植栽試験

Test plant; *P. falcataria*, 60 days after planting

表 3-3 現地より採集した土壤への播種による根粒着生試験

Species \ Soil source	Sterile (cont.)	HD	LD1	LD2	ER	K1	K2
<i>Paraserianthes falcataria</i>	—	+	—	—	—	—	—
<i>Acacia mangium</i>	—	+	—	—	+	—	—
<i>Leucaena glauca</i>	—	—	—	—	nd	—	—
<i>Sesbania rostrata</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Crotalaria juncea</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

※ 播種後 2 ヶ月目に観察

※ nd; 枯死

(5) 根粒から分離した菌の特性および系統解析

乾燥保存していた根粒を表面殺菌処理後、搾汁を培地に塗布、コロニー化させた。出現したコロニーを、形状、色調、グラム染色性等で分類した (表 3-4)。アカシアからの分離菌は、無菌発芽させたアカシアの芽生えに接種し、約 3 ヶ月間育成して根粒着生の有無を調べた。その結果、ER-C グループと、ER-W グループの株のみが根粒形成能を示した。AcER-W グループはグラム染色により、グラム陽性と判定した菌群であった。一方、*F. splendidissima* は、ブキットバンキライで採集した種子を、採集直後に現地で播種したものではほぼ 100%の発芽が認められたものの、ブキットバンキライからボゴールに持ち帰って、種子殺菌処理後に播種したものは全く発芽せず、分離株の本来の宿主植物への再接種試験は出来なかった。そこで、*F. splendidissima* の分離株の接種試験相手として、共生範囲の広い植物として知られる、シラトロを使用した。その結果、FsHD α 4 と FsHD β 3 が根粒形成能を有することを確認した。

表 3-4 アカシア根粒から分離した菌の特性

Strains	type	color	Gram	
			staining	Isolates
ER-B	rough	brown	—	14
ER-Wg1	rough	white	—	1
ER-Wg2	smooth	white	—	1
ER-C	rough	brown	—	3
ER-Cg	rough	brown	—	2
ER-Bg	rough	brown	—	2
ER-W	smooth	white	+	7
ER-Ws	smooth	white	+	1
ER-U	rough	white	+	1
HD-E	rough	white	—	13
HD-Sf	rough	white	—	13
HD-T	smooth	white	—	2
HD-S	smooth	white	—	3
HD-Cs	rough	white	—	3

アカシア分離株 ER-C グループの菌株 (AcER-C) から、AcER-C1, AcER-NC2-3 と AcER-NC1-2 の 3 株、*F. splendidissima* の分離株、FsHD α 4 と FsHD β 3 の 5 株について、16S rDNA の一部可変領域約 300bp の配列解析を行った。その結果、アカシア分離株の AcER-C1 株と AcER-NC2-3 株は、*Burkholderia gladioli* と 99%、AcER-NC1-2 株は *Streptomyces phaeopurpureus* と 99%の相同性を示した。また、Fordia 分離株の FsHD α 4 株は、*Paenibacillus* sp. と、FsHD β 3 は *Microbacterium resistens* と高い相同性を示した (図 3-6)。後者の 2 株は、いずれもグラム陽性菌である。現在のところ、グラム陽性菌で、植物と共生し窒素固定をする菌は、放線菌の中間のフランキアが知られているのみで、より詳細な解析が必要である。

また、AcER-3 (アカシア)、FsK-3 (*Fordia*) の 2 株はいずれも、*Rhizobium* と近縁の *Agrobacterium* と相同性が高いことが判明した (図 3-7)。

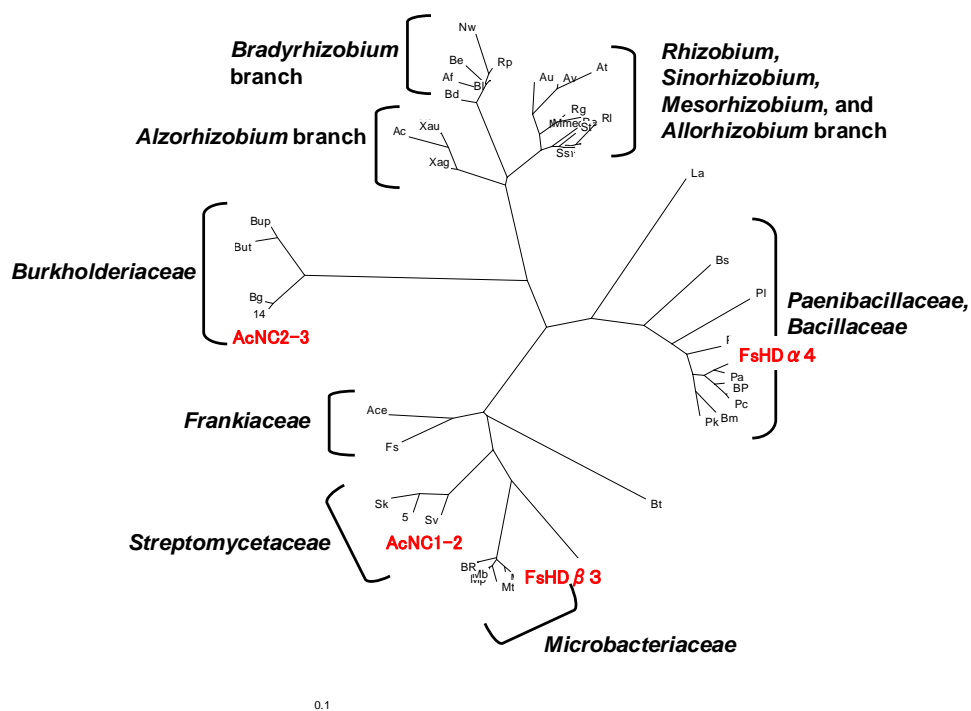


図 3-6 アカシアと *Fordia* 根粒からの分離菌株の 16S rDNA 部分塩基配列に基づく系統樹 (Unrooted radial tree)

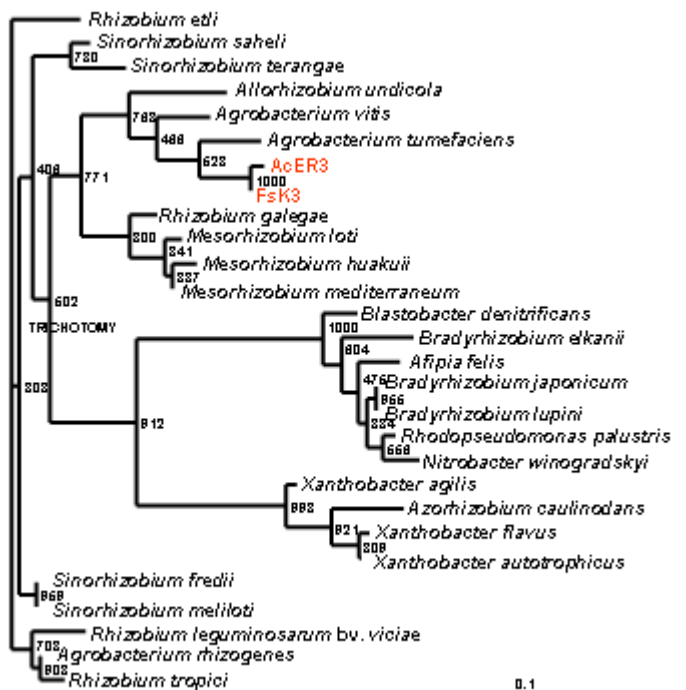


図 3-7 AcER3, FsK3 の 16S rDNA 部分塩基配列に基づく系統樹

分離菌株が属することが判明した菌株グループ、*Agrobacterium*、*Burkholderia*、*Streptomyces*、*Paenibacillus*、*Microbacterium*のいずれもが、植物根圏共棲菌(endophyte)として報告されている。中でも*Burkholderia*は、主にマメ科樹木との共生、さらに窒素固定を行うものも知られており²⁾、我々も、モルッカネム(*Paraserianthes falcataria*)の根粒から窒素固定能をもつ共生菌として分離した実績がある⁶⁾。今回のサンプリングで、対象としたマメ科木本植物根粒の共生菌の多くが、Rhizobiaceae以外であったことについては、分離根粒の個体数を増やすこと、火災被災地以外や、異なる地域からのサンプリングを行うなど、さらなる解析が必要であるが、現在得られている結果をもとに考察するなら、マメ科樹木根圏におけるこれらの菌株の関与を考えると、PGPB (Plant growth promoting bacteria)としての役割が考えられる。今回の分離菌株を、植物に再感染させると、窒素養分を含まない培地で、2,3ヶ月もの間栽培すると通常なら枯死するものが多くなるが、いくつかの菌株では、根粒形成には至らないにも関わらず、植物が生育し続けるものが認められた。このようなケースは、根圏または根粒中で接種菌が、植物生育促進物質を生成し、植物に供給している可能性が考えられる。もともと貧栄養な熱帯地方の森林土壌環境では、土壌微生物にとっても、植物と何らかのinteractionを保つ方が、種の維持等には有効な手段である。根粒菌以外の菌が、根粒菌と同じように植物と共生することによって、継続的な養分の獲得と、細菌類を餌とする外敵からの保護が可能となっていると考えられる。

野外の土壌中の細菌構成を、ある特定の種(根粒菌)について調査する場合には、さしあたり16S rDNAの部分塩基配列により、植物と共生している菌株の種類を大まかに推定することは、有効且つ必要な手法である。分離した菌株の確実な同定には、さらに詳細な遺伝子解析に加えて、化学的解析を加える必要が残されている。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

1) 被災林に生育しているマメ科樹木には根粒着生が多く、森林再生に貢献している可能性が示された。ただし、各区から採取した土壌へのマメ科木本植物の播種生育試験では、アカシアと*Paraserianthes*に根粒着生が見られただけで、共生菌はあまり多様でないと考えられた。

2) 共生組織(根粒)からの共生菌の分離・解析の結果、一般に根圏微生物、中でもendophyteとして知られている種が先行で見出された。このことは、再生途上にある林床では、植物根圏と密接に関わる細菌類が、植物根内部に共存することにより、植物の生育補助や、個体としての丈夫さの植物への賦与に働いている可能性を示した。

(2) 地球環境政策への貢献

以上の事実より、更なる解析の必要性は残されているが、植物根圏における生物的土壌条件を荒廃地再生に生かすシステムの構築は可能になると判断できた。

6. 引用文献

- (1) 中村道徳 生物窒素固定 学会出版センター (1980)
- (2) Moulin, L., Munive, A., Dreyfus, B., Bolvin-Masson, C., Nature 411, 948-950 (2001)
- (3) Nuntagij, A., Abe, M., Uchiumi, T., Boonkerd, N. and Higashi, S.: (1997). Characterization

- of *Bradyrhizobium* strains isolated from soybean cultivation in Thailand. J. Gen. Appl. Microbiol. 43, 183-187.
- (4) Fuentes, J. B., Abe, M., Uchiumi, T., Suzuki, A. and Higashi, S. (2002). Symbiotic Root Nodule Bacteria Isolated from Yam bean (*Pachyrhizus erosus*). J. Gen. Appl. Microbiol. 48, 181-191
- (5) Ngom, A., Nakagawa, Y., Sawada, H., Tsukahara, J., Wakabayashi, S., Uchiumi, T., Nuntagij, A., Kotepong, S., Suzuki, A., Higashi S., and Abe, M. (2004) *Ochrobactrum* sp. a novel nitrogen-fixing symbiont of *Acacia* tree. J. Gen. Appl. Microbiol. 50,17-27.
- (6) Prana, T., K., Abe, M., Uchiumi, T., Prana, M., S., Seki, T., Fujiyama, K. and Higashi, S. (1998) Characterization of root nodule bacteria isolated from *Paraserianthes falcataria*. In "Biological Nitrogen Fixation for the 21st Century." (eds.) C. Elmerich, A. Kondorosi, W.E. Newton, p. 520, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands

7. 国際共同研究等の状況

国際共同研究計画名: Rehabilitation process of tropical forest ecosystem through the interaction between plants and soil.

協力案件名; Study of root nodule bacteria of Leguminosae and its contribution on nitrogen fixation

カウンターパート氏名・所属・国名; Titik K. Prana (PhD),

インドネシア科学院生物学研究センター, インドネシア共和国

参加・連携状況; インドネシア側研究協力者に対する実験遂行指示と助言、結果の検討等
研究全般にわたる日本側研究者との Discussion

国際的な位置づけ等; 学術交流協定 (学部・研究所間交流協定) 締結 2006年, 2月

8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

なし

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 阿部美紀子、飯田淳史、Achirul Nditasari、岡元愛子、Titik K. Prana、Desy Ekawati、渡辺名月、鈴木英治、九町健一、内海俊樹: 第70回日本植物学会 (2006年9月、熊本)
「インドネシアカリマンタン島の森林火災跡地の森林再生とマメ科植物-根粒菌共生系の寄与; 調査報告」
- 2) 飯田敦史、岡元愛子、Achirul Nditasari、Titik K. Prana、Desy Ekawati、渡辺名月、鈴木英治、九町健一、内海俊樹、東四郎、阿部美紀子: 植物微生物研究会第16回研究交流会 (2006年9月、札幌)
「インドネシア東カリマンタン島の再生森林に成育する *Fordia splendidissima* の共生根粒菌 (Symbiotic bacteria of tree legume *Fordia splendidissima* relating with rehabilitation of tropical rain forest, East Kalimantan, Indonesia)」
- 3) 瀬戸山愛子、飯田淳史、Titik K. Prana、鈴木英治、九町健一、内海俊樹、東四郎、

阿部美紀子：植物微生物研究会第16回研究交流会（2007年9月、鹿児島）

「インドネシア東カリマンタン島の森林火災跡地に自生する*Acacia mangium*の根粒内細菌」

(3) 出願特許

なし

(4) シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

なし

(5) マスコミ等への公表・報道等

なし

(6) その他：

なし