

1A-13

口頭発表

ダイズの根粒着生変異と窒素施肥に応答したアルファ・ガンマプロテオバクテリアの群集構造変化

○池田 成志¹、大久保 卓¹、金子 貴一²、稲葉 尚子¹、前川 富也³、江田 志摩¹、佐藤 修正²、田畑 哲之²、三井 久幸¹、南澤 究¹

¹ 東北大院生命科、² かずさ DNA 研、³ 東北大農

Key words : 16S rRNA gene, bacterial enrichment, community analysis, *Glycine max*

根粒形成表現型(非着生型、野生型、超着生型)及び窒素施肥量がダイズ茎関連細菌の多様性に及ぼす影響について検討した。隣接した慣行施肥区(15 kgN/ha)及び窒素過剰施肥区(615 kgN/ha)において栽培を行い、開花期に茎部をサンプリングした。茎から細胞濃縮法により茎関連細菌画分を調製し、DNA 抽出を行った。得られた DNA を鋳型として 16S rRNA 遺伝子のクローンライブラリーを作製後、シーケンスを行うことにより茎関連細菌の多様性を評価した。慣行施肥区では、 α プロテオバクテリアの割合が変異体(非着生型、超着生型)(75-76%)と比較して野生型ダイズ(66%)において低下していた。対照的に、 γ プロテオバクテリアの割合は変異体(12-16%)と比較して野生型ダイズ(23%)で増加していた。クローンライブラリー間の類似性について主座標分析により解析した結果、超着生型ダイズの茎関連細菌の群集構造は野生型ダイズよりも非着生型ダイズに類似していることが示された。窒素過剰施肥区においては、根粒形成の表現型に関わらず、全てのダイズ系統において γ プロテオバクテリアの割合が増加した(32.4-56.6%)。クラスタリング解析の結果、 α 及び γ プロテオバクテリアの特定の細菌群が慣行施肥区における根粒形成表現型と窒素過剰施肥の両方の影響を強く受けていることが明らかとなった。以上の結果から、ダイズ茎関連細菌のプロテオバクテリアの一部が植物における根粒共生系制御機構の影響を受けている可能性が示唆された。さらに、特定の分類群の茎関連細菌が根粒表現型と窒素過剰施肥処理の両方の環境因子に強く反応することから、植物における根粒共生系制御機構と窒素代謝系の交差及び未知の微生物制御系の存在が示唆された。

sikeda@ige.tohoku.ac.jp

1A-14

口頭発表

「天狗の麦飯」微生物群集構造の深度別比較

○高取 惇哉¹、大河内 直彦²、小川 奈々子²、田中 樹³、近藤 洋一⁴、幡野 恭子¹、坂本 皆子¹、大久保 智司¹、宮下 英明¹

¹ 京大院・人環、² (独)・海洋機構、³ 京大院・地球環境、⁴ 野尻湖ナウマンゾウ博

Key words : "Tengu-no-mugimeshi"

「天狗の麦飯」は中部火山帯の標高の高い地域に産出する微生物塊である。これまでに表層部の「天狗の麦飯」が 10 種程度の真正細菌から成ることがわかっている。許可を得て上信越高原国立公園内の産地 1ヶ所を掘削したところ、その下部には、土色の異なる複数の微生物層が存在していた。高橋(1935)は別の産地において同様に、性状の異なる下部の微生物層の存在を報告しており、この層を「天狗の麦飯」が「徐々に分解過程を辿るもの」と考察している。本研究では、これらの下部層中の微生物が「天狗の麦飯」の形成や分解に対し重要な役割を果たしていると考え、下部各層に含まれる微生物の群集構造を明らかにするとともに、各層の安定同位体分析を行うことを目的とした。掘削可能な深さ 38 cm の縦穴の断面を観察し、土色に従い表層から最下層まで 6 層に区分し、各層からサンプルを採取した。各層の微生物を光学顕微鏡観察したところ、第 1 層(0-7 cm)には厚い莢膜をもつ微生物が多く見られたのに対して、下部各層にはほとんど見られなかった。16S rDNA を標的とする PCR-DGGE により各層の微生物群集構造を解析したところ、それぞれ 15-20 本のバンドが検出され、そのうち 6 本は全ての層に見られた。バンドパターン解析結果から 6 層は、上層(第 1 層)、中層(第 2-4 層:7-17 cm)、下層(第 5-6 層:17-38 cm)の 3 つに大別された。各層サンプルの炭素同位体比($\delta^{13}\text{C}$)を測定したところ、第 1 層から第 4 層では、-21.5--22.8‰であったのに対して、最下層の第 5 層および第 6 層は、それぞれ-24.8、-24.6‰と低い値を示した。本発表では、これらの結果を基に「天狗の麦飯」およびその下部層における微生物生態系について考察する。

takatori.j@ks3.ecs.kyoto-u.ac.jp