

水稻根より分離した酸生成嫌気性細菌の生理的・系統的多様性

○^{しろむら}城村 ^{たくや}拓哉、^{かく}加来 ^{のぶお}伸夫、^{うえき}上木 ^{あつこ}厚子、^{うえき}上木 ^{かつじ}勝司

山形大・農・生物資源学科

【目的】 水稻根は水田土壤中では最も活発な物質変換の場を構成している。すなわち水稻根上は、糖やアミノ酸、有機酸等の多様な有機物とともに O_2 が放出され、活発な好氣的微生物活動の場となっている一方で、嫌気性の微生物群集が高密度で生息しており、メタン生成を始めとした嫌氣的微生物反応が活発に進行する場ともなっている。

我々は、水田土壤中の嫌気性微生物群集の構造と機能を研究する一環として、水稻根上に生息する酸生成嫌気性細菌の生理的、系統的多様性について調べてきた(1)。本研究では、増殖基質となる有機物やビタミンの濃度が異なる各種培地を用いて、水稻根より酸生成嫌気性細菌をさらに分離し、先に報告した水稻根及び稲わら残渣分離菌株(1-3)にあわせて、生理的性質や系統的位置を比較検討した。

【材料と方法】 山形県農業試験場庄内支場の試験水田より採取した水稻根試料を無酸素条件下で破碎し、希釈段階を変えて細菌の分離源として使用した。細菌の分離は、増殖基質となる有機物とビタミンの濃度が異なる、PY4S 培地、1/10PY4S 培地ならびに 1/10PY4SV 培地(貧栄養培地)を用いた嫌気性ロールチューブ法によるコロニー分離で行った。分離菌株の 16S rDNA の PCR 増幅と塩基配列決定にはプライマーセット 27f/1492r を用いた。16S rDNA の塩基配列による系統解析は近隣結合法で行った。ガス、有機酸及びアルコールはガスクロマトグラフィーで分析した。

【結果と考察】 有機物の豊富な PY4S 培地で分離した 16 菌株は、増殖特性やグルコースからの発酵産物から、9 菌株からなる 1 グループと 1~2 菌株からなる 4 つのグループの計 5 グループに分けられた。これらの 5 つのグループはそれぞれ系統上のグループに対応した。どのグループも既知の真正細菌種と 98%以上の類似性値で最近縁に位置づけられたが、2 つのグループは同じ試験水田から採取した稲わら残渣からの分離菌株群(2)による *β-Proteobacteria* 内及び *Cellulomonaceae* 内のクラスターに位置づけられた。培地の有機成分が全て 1/10 の 1/10PY4S 培地での 14 分離菌株は 1~3 菌株からなる 8 グループに分けられた。系統上は、*β-Proteobacteria* の *Rhodocyclaceae* の種と約 93%の低い類似性値を示した 1 菌株以外は、どのグループも既知の真正細菌種と 98%以上の類似性値で最近縁に位置づけられたが、*Actinobacteria* に位置づけられた 3 グループは全て稲わら残渣分離菌株(2,3)が最近縁で、2 グループは先に報告した水稻根分離菌株(1)とともに *Rhizobiales* 内で深い分岐の系統を構成した。1/10PY4S にビタミンを加えた 1/10PY4SV 培地での 16 分離菌株は、同じく、1~3 菌株からなる少なくとも 9 つのグループに分けられた。貧栄養培地での分離菌株グループには、PY4S(V)培地でも増殖速度や最高 O.D.値が貧栄養培地とほとんど変わらず、かえって増殖開始が遅れるものなど、貧栄養性の増殖特性を示すグループが認められた。

(1)Sato et al. *Anaerobe* 8, 233-246(2002)、(2)Akasaka et al. *FEMS Microbiol. Ecol.* 43, 149-161(2003)、

(3)Akasaka et al. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* in press.

Corresponding author : 上木 勝司(E-mail : kueki@tdsl.tr.yamagata-u.ac.jp)