

水田土壌中の稲わら残渣から分離された *Actinobacteria* phylum に属する
プロピオン酸生成通性嫌気性桿菌 *Propionicimonas paludicola* gen. nov., sp. nov.

あかさか ひろし うえき あつこ はなだ さとし かまがたよういち うえき かつじ
○赤坂弘¹⁾・上木厚子¹⁾・花田智²⁾・鎌形洋一²⁾・上木勝司¹⁾

¹⁾山形大・農・生物資源、²⁾産総研・生物機能工学

【目的】水田土壌は温室効果ガスであるメタンの主な発生源の一つであり、湛水水田土壌中の稲わら等の植物残渣上には、メタン生成古細菌を含む嫌気性微生物が高密度で分布していることが知られている。しかし、水田土壌中のこれらの微生物に対する知見は少ない。我々が水田土壌中の植物残渣から分離した発酵性嫌気性細菌の種類組成は、*Actinobacteria* phylum 及び *Bacteroidetes* phylum に属する細菌が優占し、非常に特徴的な構成を示した¹⁾。これらの菌株の中には、既知の細菌種と 16S rRNA 遺伝子 (rDNA) 塩基配列の類似性が非常に低く、新規の嫌気性細菌種と思われる菌株が多数存在していた。本研究ではこれらの菌株のうち *Actinobacteria* phylum に属し、プロピオン酸を生成する 2 菌株 (Wd^T 及び Wf 株) について詳細な系統分類学的検討を行い、Wd^T を基準菌株として新属新種としての提案を行ったので報告する。

【方法】用いた菌株は、稲わら連用水田の土壌中から植物残渣として採取した稲わらをホモジナイズ処理した試料より、嫌気性ロールチューブ法により分離されたものである。培地の調製や菌株の培養に関わる操作は全て無酸素ガス [N₂ 95%+CO₂ 5% (混合ガス)] を用いた完全嫌気条件下で行った。嫌気性発酵性細菌用として一般的な PY 培地を基本培地として用い、30℃で培養した。生理・生化学的および菌体成分の化学分類学的特徴付けを行った。

【結果】Wd^T 株と Wf 株の 16S rDNA の類似性は 99.1% で、他の 3 分離菌株と共にクラスターを形成した。しかし、Wf 株以外の 4 菌株は PYG 培地での増殖が非常に弱く、コバラミン要求性を示したのに対し、Wf 株はコバラミン無添加でも良く増殖した。Wd^T 株は、コバラミンが低濃度の場合グルコースから少量の酢酸やプロピオン酸と共に主に乳酸を生成したが、コバラミン過剰下では主要生成物として酢酸とプロピオン酸をほぼ 1:2 の比率で生成し、乳酸は微量しか生成しなかった。一方、Wf 株の主要な生成物はコバラミン無添加でも酢酸とプロピオン酸だった。両菌株は、コバラミン要求性の有無以外はほとんど同じ特徴を持ち、グラム陽性の通性嫌気性多形型桿菌でグラム陽性細菌に特徴的な細胞壁を持っていた。オキシダーゼ活性、カタラーゼ活性及び硝酸還元能は陰性だった。増殖範囲は、温度 10~40℃、pH 4.5~7.5、NaCl 濃度 0~2% で、増殖基質として arabinose、xylose、fructose、galactose、glucose、mannose、cellobiose、maltose、saccharose、trehalose、glycerol、mannitol、pyruvate、lactate を利用し、ribose、lactose、malate、fumarate、succinate でも弱いながらも増殖した。G+C 含量は Wd^T 株が 68.7%、Wf 株が 67.4%、キノン組成はいずれも MK-9 (H₄) と MK-10 (H₄)、主な菌体脂肪酸は C_{13:0} と anteiso-C_{15:0} および C_{15:0}、細胞壁アミノ酸は meso-DAP だった。16S rDNA の解析による最近縁種は、好気性球菌である *Micropruina glycogenica* で、その類似性は 95.7 ~ 95.8% だった。また、*Actinobacteria* phylum 内のプロピオン酸生成細菌とは、*Propionibacterium* 属も含め約 10% 以上の隔たりがあった。このように両菌株は、いずれも既知の細菌種に比べその特徴に大きな違いがあったため、Wd^T 株を基準菌株とした *Propionicimonas paludicola* gen. nov., sp. nov. を提案した²⁾。

1) Akasaka et al. (2003) *FEMS Microbiol. Ecol.* 43, 149-161.

2) Akasaka et al., in press. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* <http://dx.doi.org/10.1099/ijls.0.02764-0>

Corresponding author: 赤坂 弘 (E-mail: hakasaka@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp)