### 1-15

不耕起栽培における糸状菌の動態について

昭日 格図<sup>1</sup>, 西澤智康<sup>2</sup>, 佐藤嘉則<sup>3</sup>, 小松崎將一<sup>2</sup>, 太田寛行<sup>2</sup> <sup>1</sup>東農工大, <sup>2</sup>茨城大農, <sup>3</sup>茨城大ICAS

カバークロップは、土壌を保全するのに役立つ作物であり、マメ科作物を用いた場合後作物への窒素供給源として期待されている。しかし、カバークロップ残渣の還元による土壌糸状菌への影響について検討事例は少ない。本研究では、不耕起栽培でのカバークロップの利用が糸状菌の動態へ及ぼす影響を検討した。

試験はロータリ耕及びプラウ耕をコントロールとし、不耕起オカボ輪作体系試験圃場(茨大農附属農場)で2004年5月から2005年10月まで行った。試験要因は、カバークロップの種類(ヘアリーベッチ、ライムギ及び裸地)とした。土壌(深さ0-10cm、10-20cm、20-30cm)は、5月と10月に採取し、土壌中のエルゴステロール含量を測定した。また、土壌から直接DNAを抽出し、18S-28S ITS 領域をPCR増幅し、クローニングして、クローンのDNA塩基配列を決定した。

2004年4月~2005年10月の採取試料では、エルゴステロール含量は耕起区と比べて、不耕起区では著しく高いことを観察された。カバークロップ区では裸地区と比べて、ライムギ区ではエルゴステロール含量が最も高く、次にヘアリーベッチ区だった。クローン解析の結果、不耕起の裸地区からは主にMortierella alpine, Cryptococcus, Pueraria montanu, Digitodesmium bambusicala, Basidiodendron caesiocinereum, Arthrobotrys oligosporaなど検出された。その他の区については現在分析を進めており、これらの結果を合わせて報告する。

# 1-16

水田土壌から分離した嫌気性の酵母様微生物

殿内 暁夫, 今田大介, 藤村直久 弘前大農生

殿内曉夫:symbio@cc.hirosaki-u.ac.jp

Key words: rice paddy soil, anaerobic eukaryote

## 【目的】

嫌気環境における有機物の無機化は、嫌気性原核生物の共同作業によって行われることが知られているが、その過程に嫌気性真核生物が寄与しているかは明らかにされていない。演者らは水田土壌から子嚢菌のアナモルフである新規な通性嫌気性糸状菌を分離しており、嫌気環境における真核生物の生態に興味を持っている。今回、水田土壌から球状の酵母様形態を示す嫌気性真核生物を分離したので報告する。

### 【方法】

嫌気性酵母様微生物は、水田土壌を接種源とし、ロールチューブ法により分離した。分離菌株の形態 観察は、光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡により、醗酵生産物の定量はガスクロマトグラフとHPLC分析 により行った。系統解析は28SrDNA配列からClustalWを使用し、近隣結合法により行った。

#### 【結果と考察】

分離菌株AF065-Yは17~50 $\mu$ mの球状で細胞表層は襞状の構造で覆われていた。液体培地では単細胞形態で増殖するが、固形培地中で形成されたコロニーでは菌糸様の形態を示した。好気条件では増殖せず、無酸素条件および還元剤添加による絶対嫌気条件で増殖した。グルコースからの主要な醗酵生産物は水素、炭酸ガス、エタノール、酢酸であり、オルガネラとしてヒドロゲノソームを保持することが示唆された。系統解析の結果、AF065-Yは系統的に新規な真核生物であることが示された。これまでの研究と今回の結果から、水田土壌には嫌気性真核生物が存在することが確認された。