

08-151

D

北海道の堆積岩断層帯周辺および石炭層における深部地下水中のメタン生成微生物群集

○清水 了¹、秋山 克¹、長沼 毅²、石島 洋二¹¹幌延 RISE、²広島大院生物圏科学

メタン生成微生物は様々な嫌気的環境に広く分布しており、CO₂/H₂ あるいは酢酸等の低分子有機物を基質にメタンを生成するため、地球環境における炭素循環において有機物の一次生産者あるいは終末分解者として深く関わっている。最近、16S rRNA 遺伝子に基づく分子生物学的手法の普及に伴い、地下深部の環境においても、メタン生成微生物の存在が示唆されるようになってきており、有機物の乏しい地下環境においてもメタン生成微生物は炭素循環に重要な役割を果たしていると考えられる。それ故、メタン生成に関わる地下微生物の多様性を明らかにすることは、地下深部の炭素循環を理解する上で重要な知見となる。最近我々は、16S rDNA クローンライブラリー法を用いて北海道の幌延地域の堆積岩帯および夕張地域の炭層といったメタンを胚胎している陸域の地下環境にメタン生成に関わる微生物が主要な微生物群集として存在していることを明らかにした。幌延地域の深部堆積岩地下水中には、*Methanococcus* 属に近縁な phylotype、硫酸還元微生物、*Firmicutes* 門、および *Bacteroidetes* 門に近縁な phylotype が共存していた。興味深いことに夕張地域の石炭層に包蔵されているメタンは同位体分析では熱分解起源であることが示唆されたが、同地下水にはメタン生成に関わる微生物群集が存在していた。同地域の炭層における微生物群集の構造は、幌延堆積岩帯のメタン生成微生物群集と類似性がみられた。これらの群集構造は中温域の深部地下水環境におけるメタン生成微生物群集構造のモデルの一つであると推察される。

satoru.shimizu@h-rise.jp

08-152

E

16S rRNA 遺伝子の大量リードによる水田土壌における脱窒細菌コミュニティの解析

○石井 聡¹、山本 倫大¹、菊池 真美²、大島 健志朗²、服部 正平²、大塚 重人¹、妹尾 啓史¹¹東大院農、²東大院新領域

土壌 DNA に含まれる 16S rRNA 遺伝子を大量にシーケンス解析することにより、水田土壌で活発に脱窒を行っている細菌群集の解明を試みた。湛水状態で前培養した水田土壌をバイアル瓶に入れ、硝酸およびコハク酸を添加し嫌気条件下、30℃にて 24h 培養し脱窒活性を高めた。対照として、硝酸のみ添加、コハク酸のみ添加、両者無添加でそれぞれ培養した土壌、さらに培養前の土壌を用意した。これら5つの土壌サンプルから bead beating を用いた直接法で DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子のほぼ全長を対象に PCR を行い、クローニングを経て塩基配列を解読した。それぞれのサンプルにつき 1000 クローンを目標にシーケンスを行い、比較解析した。*Firmicutes* は5つの土壌サンプルに共通して優占していた。硝酸のみ、あるいはコハク酸のみ添加して培養した土壌では、培養前と比較して特定の細菌グループの増加はあまり見られなかった。それに対し、硝酸およびコハク酸を添加して培養した土壌においては *Proteobacteria* 門に属する細菌が特異的に増加した。その中には昨年度報告した Stable Isotope Probing を用いた研究で確認された新規の *Betaproteobacteria* 綱に属するものが含まれていた。これらの細菌は脱窒が活発に行われる条件下の土壌で特異的に増殖するものと推定された。本研究は生研センター基礎研究推進事業の支援を受けた。

anaerobe@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp