

P-84

ポスター発表

養殖場環境における増殖細菌群の構造解析

○谷口 亮人<sup>1</sup>、平田 惣祐<sup>2</sup>、江口 充<sup>2</sup><sup>1</sup>近大院・農、<sup>2</sup>近大・農

Key words : actively growing bacteria

**【背景と目的】** 給餌型の魚類養殖では、残餌や排泄物などによる自家汚染が相変わらず問題になる。持続可能な養殖を行うためには、このような有機物負荷の大きい養殖場水域の自浄能力を把握することが不可欠となる。本研究では、養殖場環境における細菌群集による自浄能力を把握する一助として、有機物分解に対して大きな役割を担っているであろう増殖細菌群の構造を調べた。**【材料と方法】** 2009年5月および7月に、近畿大学水産研究所の棧橋(水深約10m)から、1mおよびB-1m深度海水を採取し、目合200 $\mu\text{m}$  ナイロンメッシュで前濾過した。また、養魚生簀直下の底泥堆積物を柱状に採取し、容易に水中へ巻き上がる層を浮泥試料とした。増殖細菌群の解析のため、試料に最終濃度1 $\mu\text{M}$ となるようにプロモデオキシウリジン(BrdU)を加え、現場海水温で5時間培養した。培養後、孔径3 $\mu\text{m}$  ポリカーボネートフィルターおよび孔径0.22 $\mu\text{m}$  カートリッジフィルターで試料を濾過し、DNAを抽出・精製した後、BrdU標識DNAを分取し、16SrRNA遺伝子の一部をPCR増幅し、DGGE解析を行った。**【結果と考察】** BrdU標識DNA分取後のPCRでは、 $>3\mu\text{m}$  海水画分のDNA試料が3-0.22 $\mu\text{m}$  海水画分と比較してあまり増幅されなかった。これまでに、付着性細菌はチミジン取込み速度に対してロイシンの取込み速度の方が速いという報告があることから、本試料においても、付着性細菌のほとんどは活発にDNA合成をしていなかったのかもしれない。また、浮泥試料のPCR増幅産物量が相対的に多かったことから、浮泥細菌群集の潜在的な有機物利用能力が高いこと、つまり、海水混合期において水中の有機物消費に貢献し得ることが示唆された。1mとB-1m深度海水、浮泥試料でDGGEバンドパターンを比較したところ、海水および堆積物における全DNAとBrdU標識DNAのDGGEバンドパターンにはそれぞれ違いが見られ、それら細菌群集構造が異なることがわかった。

ns\_htrakito@nara.kindai.ac.jp

P-85

ポスター発表

土壌型の異なる圃場に生息するアンモニア酸化細菌およびアンモニア酸化古細菌の群集構造解析

○森本 晶<sup>1</sup>、早津 雅仁<sup>1</sup>、星野 裕子<sup>1</sup>、長岡 一成<sup>2</sup>、鈴木 千夏<sup>2</sup>、竹中 眞<sup>2</sup>、秋山 博子<sup>1</sup><sup>1</sup>農環研、<sup>2</sup>中央農研

Key words : AOB, AOA, amoA, soil nitrification potential

従来、土壌中のアンモニア酸化は、主にアンモニア酸化細菌(AOB)によって担われていると考えられてきた。しかし近年、アンモニア酸化古細菌(AOA)の存在が明らかになり、硝化プロセスにおけるその役割が注目されている。本研究では、土壌型の異なる4つの圃場において、施肥前後のAOB、AOAの群集構造とポピュレーションの変化を調べ、各菌群と土壌の硝化能の関係を明らかにすることを目的とした。中央農業総合研究センターに設置された柵圃場(腐植質黒ボク土、黄色土、灰色低地土、淡色黒ボク土)から、化肥施用前および施肥1週後に土壌を採取し硝化能を測定した。また、各0.4gの土壌からDNAを抽出し、AOBおよびAOAそれぞれの*amoA*を標的とするPCR-DGGEと定量PCRを行った。DGGE解析の結果、AOB、AOAいずれについても施肥による影響は見られないものの、土壌型ごとに固有のAOB、AOA群集が形成されていることが分かった。土壌の硝化能は腐植質黒ボク土で最も高く、以下、淡色黒ボク土、灰色低地土、黄色土の順であり、施肥によって硝化能が増大する傾向がみられた。また、土壌中の各*amoA*密度と硝化能は正の相関を示した。相関の強さはAOAが $R^2=0.707$ であったのに対し、AOBでは $R^2=0.914$ であり、AOBの*amoA*密度と硝化能の間により強い相関が認められた。一方、土壌中の存在量自体は、AOA*amoA*の方がAOB*amoA*よりも約2~10倍多かった。以上の結果から、土壌の硝化にはAOBの寄与が大きいと考えられるが、AOAも一定の役割を果たしていることが示唆された。

shomo@niaes.affrc.go.jp

P-86の要旨は1A-17をご覧ください。