

J PB-061 健全および赤かび病罹病コムギ小穂から分離される*Pseudomonas*属細菌のバイオフィルム形成程度および穂への定着性の差異

○吉田 重信¹, 大場 淳司², 梁 英梅³, 小板橋 基夫¹, 對馬 誠也¹

¹農環研, ²古川農試, ³北京林大

Key Word : phyllosphere, *Pseudomonas*, wheat, biofilm, Fusarium head blight

【目的】葉圏微生物は、農作物の生産性や品質・病害抑止に重要な役割を持ち、今後さらに解明を進めるべき研究対象とされている。演者らは、葉圏微生物を活用した病害防除のための基礎知見として、健全植物組織と罹病植物組織に生息する細菌の構成の相違を調べ、それぞれに特異的に生息する細菌の特性や、病原菌との相互関係を解明することを目的とした。

【方法・結果】コムギの重要病害として知られる赤かび病に着目し、罹病穂の中の健全および罹病小穂から細菌を分離し、16SrRNA遺伝子に基づく各菌株の分類学的位置を推定した。その結果、*Pseudomonas*属菌等が優占的に分離されたが、本属に属する菌株の系統解析を行った結果、健全および罹病小穂それぞれに特異的に生息する系統が存在することが明らかになった。そこで、これらの系統が特異的に生息しうる要因を明らかにするために、各系統のバイオフィルム (bf) 形成能をマイクロプレートウェルで調べるとともに、小穂上での定着形態をSEMで観察した。その結果、健全小穂由来の系統 (健全系統) はbfを高度に形成し、小穂上においても集合体となって定着していることが観察された。一方、罹病小穂由来の系統 (罹病系統) はbf形成能が低く、小穂上でも定着する細胞数は少なかったが、赤かび病菌 (*Fusarium graminearum*) を共接種した場合には、細菌細胞は高密度に定着していた。このことから、健全系統は元来高い定着能を有し、小穂上で生息するのに対し、罹病系統は赤かび病菌の存在下で定着能が高まり、小穂上で生息しうることが示唆された。

J PB-062 温泉微生物マットから分離した糸状性光合成細菌*Chloroflexus aggregans*のバイオフィルム形成

○溝口 啓太, 松浦 克美, 春田 伸

首都大院理工

Key Word : biofilm formation, *Chloroflexus aggregans*, hot spring

長野県中房温泉では、温泉水が流れ落ちる砂防ダムの壁面に、糸状性光合成細菌*Chloroflexus aggregans*を主要構成種とする微生物マットが附着して発達している。これまでに分離例のある*C. aggregans*は、自己凝集性を示すが、固体表面への附着性は観察されていない。本研究では、*C. aggregans*を含む微生物マットが、どのように壁面に附着して生育するか調べた。

採取した微生物マットを光従属栄養条件で液体培養したところ、ガラス試験管壁に附着性を示す培養系が得られた。試験管壁に附着した菌体を白金耳でかきとり、植え継ぎを繰り返した。附着した画分を顕微鏡観察すると、糸状性細菌を中心にいくつかの桿菌が見られた。附着画分から*C. aggregans*を分離すると、これまでに分離されている*C. aggregans*とは異なり、試験管壁に附着性が観察された。また、*C. aggregans*と共存していた嫌気従属栄養細菌を分離し、*C. aggregans*と混合培養した。純粋培養した場合は、培養液を激しく振とうするとほとんどの菌体が剥がれ落ちるが、混合培養ではガラス壁面に多くの*C. aggregans*が附着したままだった。

以上から、固体表面に附着性を示す*C. aggregans*株の分離に成功し、その附着性は、他細菌との共存により強くなることが示された。

ポスター PB

遺伝子伝播

J PB-063 養殖環境由来薬剤耐性伝達性プラスミドの比較解析

○野中 里佐¹, 丸山 史人¹, 小椋 義俊³, 林 哲也⁴, 中川 一路², 増田 道明¹

¹獨医大・医, ²東京医歯大・院医歯総合, ³宮崎大・フロンティア科学, ⁴宮崎大・医

Key Word : drug resistance plasmids, transferable, comparative analysis, aquaculture, environment

【目的】養殖環境中の細菌には伝達性の多剤耐性プラスミドを保有するものが多く存在し、環境中における細菌間でのプラスミド伝播は養殖過程における薬剤耐性菌の出現に大きく関与していると考えられる。本研究では養殖環境細菌から見つかった新規タイプの伝達性プラスミドを対象に比較解析を行い、環境中で多剤耐性プラスミドが形成されるメカニズムを明らかにすることを目的とする。

【方法】養殖場底泥よりテトラサイクリン耐性菌として分離された*Vibrio* sp. 04Ya090の保有する伝達性プラスミドの全塩基配列を決定した。また、同一環境由来で既に全塩基配列解析が完了している多剤耐性プラスミドpAQU1との比較を行った。また両者に共通すると推測された領域をカバーするプライマーを設計し、同一環境から得られた他の伝達性プラスミドの類似性について調べた。【結果と考察】比較した二つのプラスミドではその複製や保持に関与する遺伝子に加え、接合伝達 (type IV secretion system) に関与する遺伝子群を含む領域を共通してもつことが明らかになった。一方、薬剤耐性遺伝子は他の複数の遺伝子を含むまとまった単位で細菌間を移動していること、およびこれにはインテグレースやトランスポゼースが関与していることが示唆された。さらに同一の養殖環境より分離した細菌も上記二つのプラスミドと類似性の高いプラスミドをもつことが明らかになった。以上の結果から、養殖環境中における多剤耐性プラスミドの形成には、細菌間での耐性遺伝子のやりとりが重要な役割を果たしていることが示唆された。