

## P25-19

## 地衣類共生細菌相と生物地理

○柏原 克彦<sup>1</sup>、伊村 智<sup>3</sup>、植竹 淳<sup>2,3</sup>、中井 亮佑<sup>4</sup>、長沼 毅<sup>1</sup><sup>1</sup>広島大・院生物圏科学、<sup>2</sup>情報・システム研究機構 新領域融合研究センター、<sup>3</sup>極地研、<sup>4</sup>遺伝研

地衣類は世界の陸域に最も広範囲に分布する目に見える生物である。寒冷地や乾燥地、火口など他の生物がほとんどいない極限環境にまで生息している。地衣類は菌類が構造体を、共生藻類が光合成産物を提供しあう共生関係であるが、近年の研究では第三のメンバーとして細菌の存在が指摘されている。しかし、地衣類共生細菌の種組成や地理的特性などの知見は不足している。本研究では南極・昭和基地周辺の氷河周縁域および赤道直下のウガンダのルウェンゾリ山（標高5109m）の氷河周縁域から採取された岩上着生の地衣類（南極のものは形態的に *Umbilicaria aprina* とされる）を用いて、真核生物18S rRNA遺伝子を標的に菌類と藻類を、細菌16S rRNA遺伝子を標的に共生細菌相を、異なる群生地から採取された地衣類間で比較した。得られた真核生物18S rRNA遺伝子の配列をデータベースで検索すると、地衣類を構成している菌類は *Umbilicaria yunnana*、共生藻類は *Trebouxia asymmetrica* と高い相性を示した。細菌16S rRNA遺伝子の配列から、共生細菌相は、予想以上に多様である可能性が示唆された。また、スフィンゴ細菌やアルファプロテオ細菌、ガンマプロテオ細菌がよく優占して検出される一方で、2011年に新設された新門であるアルマティモナス門に近縁な配列も得られ、今後も、少なくない新奇な細菌が検出される可能性も示唆された。また、採取地点間と細菌相にどのような関係が見られるのか、生物地理的観点からも検討したい。

## P25-20

## 一酸化二窒素生成活性を有する土壌糸状菌の内生細菌保有に関する研究

○水上 沙紀<sup>1</sup>、太田 寛行<sup>1</sup><sup>1</sup>茨城大・院農

先に、佐藤らは畑地土壌より分離したN<sub>2</sub>O生成活性をもつ糸状菌 *Mortierella elongata* FMR23-6I-B1株が菌糸内部に *Burkholderiaceae* 科に属する細菌を保有していること、また、牛糞スラリー長期連用畑地土壌より分離した糸状菌株において、N<sub>2</sub>O生成活性を有する菌株が多数あることを報告した。本研究ではN<sub>2</sub>O生成活性を有する糸状菌分離株コレクションで、内生細菌の保有状況について明らかにすることを目的とした。供試糸状菌株は、九州沖縄農業研究センター・都城研究拠点の長期スラリー連用畑地土壌（年間スラリー施用量600 Mg/ha区）から分離したN<sub>2</sub>O生成活性を有する107株を用いた。糸状菌体からDNAを抽出・精製し、細菌16S rRNA遺伝子を標的としてPCR増幅を行い、増幅の見られた糸状菌株は、菌糸体をLIVE/DEAD染色して蛍光顕微鏡観察した。16S rRNA遺伝子のPCR増幅およびLIVE/DEAD染色による蛍光顕微鏡観察により、糸状菌分離株4株（近縁菌種、 *Hypocreaceae* sp., *Trametes hirsuta*, *Myrothecium cinctum*, *Schizophyllum commune*）の菌糸内に内生細菌様構造物の存在を確認した。これらの菌株のNaNO<sub>2</sub>を基質としたN<sub>2</sub>O生成活性は、0.004~8.3 ng/N<sub>2</sub>O-N mg dry weight minであった。現在、内生細菌の16S rRNA遺伝子を解析中である。以上の結果より、供試土壌中の培養可能なN<sub>2</sub>O生成糸状菌では内生細菌の保有率は数%程度であると推察された。