

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		田畑輪換圃場における土壌中のメタン生成古細菌群の生態解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Dynamics of methanogenic archaeal community in paddy field soil under paddy-upland rotation			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) アサカワ	名) ススム	研究期間 B	2014 ~ 2015 年
	漢字 CB	浅川	晋	報告年度 YR	2015 年
	ローマ字 CZ	Asakawa	Susumu	研究機関名	名古屋大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		名古屋大学大学院生命農学研究科・教授			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>田畑輪換圃場におけるメタン生成古細菌群の動態を解析し、それらの動態に影響を及ぼす要因を分離株のゲノム情報を利用して菌の生理や土壌環境因子との関連で解析することにより、水田土壌中での安定性維持や変動に関わるメカニズムの解明を目指した。</p> <p>1. 田畑輪換圃場におけるメタン生成古細菌の動態解析 湛水下の水稲作と落水畑条件下のダイズ作を様々な間隔で行っている田畑輪換圃場において、土壌中に存在するメタン生成古細菌の群集構造を 16S rRNA 遺伝子および <i>mcrA</i> 遺伝子を対象として解析した。輪換区では対照の水稲連作区に比べメタン生成古細菌の存在量は約 1 桁低く、メタン生成古細菌の群集構成が異なった。特に <i>Methanosarcinales</i> に属する菌群は輪換により極めて大きな影響を受け存在比率が減少した。以上より、田畑輪換における 1 年以上の畑転換はメタン生成古細菌の群集構造に影響を及ぼし、一部の菌群には重大な影響を与えることが明らかとなった。</p> <p>さらに、活性を有するメタン生成古細菌群集の動態を、16S rRNA 遺伝子と <i>mcrA</i> 遺伝子およびそれらの転写産物を対象として解析した。輪換区では水田作あるいは畑作に伴う土壌条件の違いに対応して活性を有するメタン生成古細菌の存在量は変動し、1 年以上の畑転換により <i>mcrA</i> 遺伝子の転写産物量が 1/100 から 1/1,000 程度に大きく減少した。そのような条件下では土壌固有のメタン生成古細菌群集が極めて低い転写活性を持ち、生残していた。以上より、田畑輪換における 1 年以上の畑転換は活性を有するメタン生成古細菌の存在量に特に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。</p> <p>2. メタン生成古細菌の動態に影響を及ぼす要因の解析-酸化ストレスに対する防御機構-</p> <p>1) 抗酸化酵素遺伝子の発現 ゲノム配列のドラフト解析が行なわれている水田からの分離株 (<i>Methanobrevibacter arboriphilus</i> SA 株、<i>Methanoculleus chikugoensis</i> MG62 株、<i>Methanosarcina mazei</i> TMA 株) について、代表的な抗酸化酵素であるカタラーゼとスーパーオキシドジスムターゼ、また、メタン生成古細菌に特有な酵素の F<sub>420</sub>H<sub>2</sub> oxidase をコードする遺伝子 (それぞれ、<i>kat</i>, <i>sod</i>, <i>fprA</i>) を探索した。<i>M. arboriphilus</i> SA 株は <i>kat</i> を 1 つと <i>fprA</i> を 2 つ、<i>M. chikugoensis</i> MG62 株は <i>sod</i> を 2 つ、<i>M. mazei</i> TMA 株は <i>kat</i> を 2 つと <i>sod</i> を 1 つ保有していた。さらに、それぞれの菌株を培養し mRNA の解析を行ったところ、いずれの遺伝子の転写産物も確認され、これらの抗酸化酵素が発現されていることが示唆された。水田から分離されたメタン生成古細菌が多様な抗酸化酵素遺伝子を有し、さらにそれらの遺伝子が転写されていることを初めて明らかにした。</p> <p>2) バイオシリカ形成 上記の水田から分離された 3 菌株をケイ酸含有培地で培養し、バイオシリカ形成能を調査した。<i>M. mazei</i> TMA 株では細胞周囲にケイ素を含む析出物が付着することが確認され、バイオシリカ形成能を有すると考えられた。メタン生成古細菌がバイオシリカ形成能を持つ可能性を示した初めての例である。</p> <p>以上の結果は、メタン生成古細菌が抗酸化酵素やバイオシリカ形成能を、田畑輪換により生じる酸化ストレスに対する防御に部分的に利用している可能性を示唆していると考えられた。</p>					
キーワード FA	メタン生成古細菌	田畑輪換	群集動態	酸化ストレス	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Effect of paddy-upland rotation on methanogenic archaeal community structure in paddy field soil							
	著者名 <sup>GA</sup>	Liu D. <i>et al.</i>	雑誌名 <sup>GC</sup>	Microbial Ecology					
	ページ <sup>GF</sup>	160~168	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	5	巻号 <sup>GD</sup>	69
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

Dynamics of methanogenic archaeal community composition and abundance in paddy-upland rotational fields and factors influencing the dynamics in relation to cell physiology and soil conditions were investigated to reveal mechanisms of the variability and stability of the community structure.

Based on the analyses of 16S rRNA and *mcrA* genes, the abundance of methanogenic archaeal community existed in soil decreased to about one-tenth in the rotational plot than in the consecutive paddy (control) plot and some members belonging to the *Methanosarcinales* were strongly affected. Dynamics of active members of methanogenic archaeal community was investigated targeting 16S rRNA gene, *mcrA* gene and their transcripts. The abundance of *mcrA* transcripts was greatly decreased in the rotational plots after upland conversion longer than one year and autochthonous groups of methanogenic archaea seemed to survive and kept very low transcriptional activities under the upland conditions in the rotational field. The results showed that the composition and abundance of active members of methanogenic archaea were greatly affected by the upland conversion longer than one year in the rotational field.

Genes encoding antioxidant enzymes, catalase, superoxide dismutase and F<sub>420</sub>H<sub>2</sub> oxidase, were surveyed in genomes of methanogenic archaeal isolates from paddy field soil, *Methanobrevibacter arboriphilus* SA, *Methanoculleus chikugoensis* MG62 and *Methanosarcina mazei* TMA, whose draft genome sequences have been already determined. All of the isolates possessed at least one of the genes for the enzymes and the genes were transcribed in the cells collected from cultures of the strains, indicating expression of the antioxidant enzymes in the methanogenic archaeal strains. *M. mazei* TMA exhibited an ability of bio-silicification in the culture medium supplemented with silicate. These results indicated a possibility that methanogenic archaea could utilize the functions of antioxidant enzymes and bio-silica in part to defend oxidative stresses caused by oxic soil conditions such as upland conversion of paddy fields.