

東シベリア・タイガ林林床土壌微生物群集がもつ窒素固定能の評価

生命分子化学講座 生態化学分野

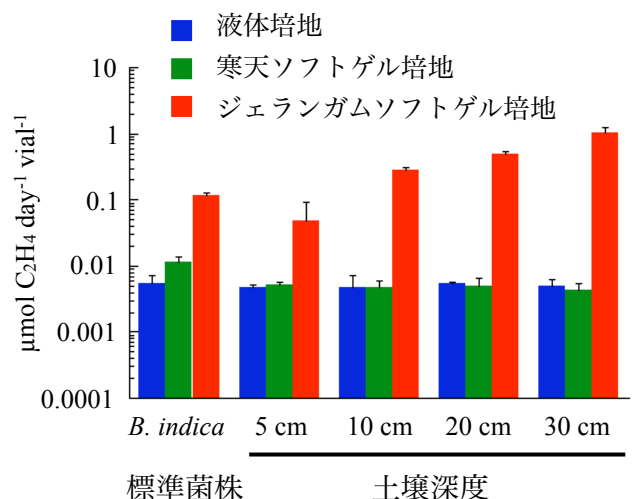
原新太郎

【背景と目的】シベリア永久凍土のタイガ林を含む北方林の林床土壌は、低温のために有機態窒素の無機化が起こりにくく、また、その土壌や植物根を調べても窒素固定活性はほとんど検出されない。そのため、大量のバイオマスを維持する北方林には明かされていない窒素循環システムが存在すると考えられ、収支計算によると年間13 kg/ha以上の“出所不明”な窒素が土壌中に供給されていることになる¹⁾。本研究では、培地のゲルマトリックスや炭素源、pH、培養温度などの条件を改良し、これまでほとんど窒素固定能が検出されなかった現地土壌中の単生窒素固定細菌群集による窒素固定能の再評価を試みた。土壌中の窒素固定細菌の培養には0.2%寒天のソフトゲル培地が汎用されるが、本研究では、*Sphingomonas* 属細菌が産生する細胞外多糖であり、紅藻類の多糖に由来する寒天とは明らかに異なる諸性質を持つジェランガムをゲルマトリックスとした0.3%ジェランガムソフトゲル培地による培養を検討した。

【方法と結果】窒素固定能の検出にはアセチレン還元法を用いた。Winogradsky's 無機塩無窒素培地を基礎培地としたジェランガムソフトゲル培地を用いたところ、液体培地や寒天ソフトゲル培地中ではほとんどアセチレン還元能を示さない土壌微生物群集が、ジェランガムソフトゲル培地中では高い還元能を発揮することが分かった²⁾。諸条件を検討したところ、炭素源は0.05% D-マンニトール、培養温度は10°Cから15°C、培地pHは6.0がアセチレン還元における至適条件であった。また、有機物層のメタノール抽出物に含まれる高極性化合物を培地に添加したところ、アセチレン還元が有意に亢進された。高極性画分にはマンニトールが含まれており、粗抽出物総重量の3.0%以上を占めていた。

【考察及び結論】ジェランガムソフトゲル培地を用いることにより、土壌微生物群集の高いアセチレン還元能が検出された。さらに、至適培養条件の検討から、従来法よりも低濃度の糖、低温という、より現地土壌に近い条件で高い活性を示すことが判った。腐植層には、検討した炭素源の中で最も高い活性を引き出したD-マンニトールが適量含まれること、高極性化合物にアセチレン還元亢進化合物が認められることも、これに一致する。

現地土壌環境に近い培養条件で高いアセチレン還元を示したことから、林床土壌の単生窒素固定細菌群集が東シベリア・タイガ林の窒素供給源となりうることを示唆された。



ゲルマトリックスがアセチレン還元能に及ぼす影響

各土壌深度の微生物群集をそれぞれ10 mLの液体培地、寒天ソフトゲル培地、ジェランガムソフトゲル培地中で培養し、アセチレン還元能を測定した。接種源は土壌微生物群集をジェランガムソフトゲル培地で前培養したものを用いた。15°C暗所で14日間培養した後にアセチレンを封入し、さらに7日間、同一条件下で培養して、アセチレンから生成されるエチレン量を測定した (n=5, SD)。

1) Hatano et al., Proc. RR 2000 Symposium, 99-103, 2001
2) Hara et al., Applied Environmental Microbiology, 75, 2009 (accepted)