

融雪期における N₂O 生成土壌細菌に関する生態学的研究

生物共生科学講座 北海道農業生産基盤学分野

関口萌子

【背景】冬期に土壌凍結が生じる地域では、年間 N₂O 放出量の 85%以上が融雪期に放出される事例が報告されている。この時期に放出される N₂O は、融雪水によって湛水が生じることにより、土壌微生物による脱窒が活発となることで生成されると考えられているが、これを担う微生物に関する知見は未だ乏しい。そこで本研究では、融雪期に優勢的に検出される細菌が N₂O 生成反応を担っているという仮説のもと、融雪期の圃場から採取した土壌の DNA を用いた群集構造解析を行い、その結果から単離対象を絞り、融雪期の土壌を模した培養条件で単離・同定を行った。群集構造解析結果と単離菌株の N₂O 生成能から、融雪期における N₂O 生成を担う細菌の特定を本研究の目的とした。

【方法】高温非湛水状態の夏期（2011 年 8 月 25 日）および、低温湛水状態の融雪期（2012 年 4 月 16 日）に北農研芽室拠点の裸地圃場を調査した。土壌深度 10 cm に埋設したシリコンチューブから土壌ガスを採取し、N₂O 濃度を測定した。また深度 0~5 cm の土壌から DNA を抽出し、16S rDNA を対象としたアンプリコンシーケンスにより土壌細菌の群集構造解析を行った。その結果をもとに N₂O 生成細菌の単離条件を設定し、Functional Single Cell 単離法を用いて単離した後、同定および N₂O 生成能の評価を行った。

【結果及び考察】試料採取時の地温は、夏期 19.2°C・融雪期 1.7°Cであり、また WFPS は夏期 50%、融雪期は 100%に近い値を示した。さらに土壌 N₂O 濃度は、0.33 ppm であった夏期に対して、融雪期では約 20 倍の 6.8 ppm に増加した。これらの結果は、融雪期の湛水によって還元状態が促進された低温土壌において N₂O の生成が活発に行われていることを示している。この土壌に対して群集構造解析を行った結果、融雪期において優勢的に存在した属の中に、低温適応性を持つ細菌や脱窒細菌の単離例が報告されている属が含まれていた。そこで検出された属に含まれる *Massilia* 属脱窒細菌の単離法を用い、30°C の培養条件から単離された菌株はベータプロテオバクテリア綱に、8°C から単離された菌株はガンマプロテオバクテリア綱に属する細菌が単離された。どの単離株も 30°C 培養では N₂O 生成能を示す一方で、8°C 培養では *Pseudomonas* sp. B-4 株のみが N₂O 生成能を示した。さらに群集構造解析において *Pseudomonas* 属は夏期でも存在が確認されるが、融雪期において優勢的に検出されており、また B-4 株は 8°C の培養条件において単離された菌株であることから、*Pseudomonas* 属に含まれる細菌が融雪期における N₂O 生成細菌の一つであることが示唆された。