

北方圏森林土壌の真正細菌群集および古細菌群集構造解析とそれらの窒素循環に対する寄与の解明

応用生物化学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 磯田玲華

1. 背景・目的

北方圏およびそれに近い森林限界線付近は、気温が低いためリター（落葉落枝）分解が極めて遅く、土壌微生物の活動量も小さいため、土壌に供給される窒素や炭素が制限されている。しかし近年の温暖化によって、北方圏の気温上昇が著しく、これまでに表層に蓄積されてきたリターの分解が加速されることによって、付近の植生や物質循環にも影響が及ぶのではないかと懸念されている。本研究は、北方圏森林生態系における土壌微生物の寄与解明を目的とした。

2. 方法

フィンランド森林限界線ツンドラ帯 Pallas (N68°02' E24°04') のトウヒ疎林の林床土壌、および比較として北海道苫小牧 (N42°26' E141°47') カラマツ林の林床土壌土壌のA層またはB層をそれぞれ採取した。Winogradsky's 無機塩無窒素ジェランガムソフトゲルに混合炭素源を 0.02-2.0%の範囲で7区設定して加え、各培地に少量の土壌を接種し、それぞれの培養物についてアセチレン還元試験を行った。また、培養物からDNAを回収し、真正細菌および古細菌 16S rRNA 遺伝子を標的とした変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法（以下 DGGE 法）による菌叢解析を試みた。

3. 結果と考察

1) アセチレン還元と微生物群集解析 Pallas B1 および B2 層、苫小牧 B 層土壌微生物群集は比較的低濃度の培地中炭素源 (0.75-0.10%) で活発なアセチレン還元（窒素固定の一次指標）を示し (20-40 nmol h⁻¹ vial⁻¹), 0.5%以上では強く抑制された。一方、苫小牧 A 層培養物は高濃度の炭素源 (0.10-0.50%) で非常に高いアセチレン還元 (最大 100 nmol h⁻¹ vial⁻¹) を示したが、炭素源濃度 0.2% では活性は完全に抑制された。最大のアセチレン還元量と炭素源濃度の相関が現地土壌の可溶性有機炭素濃度を反映しており、土壌微生物群集は現地の土壌条件に適応していると考えられる。真正細菌 16S rRNA 遺伝子を標的とした菌叢解析では、Pallas 土壌では *Clostridium* sp., 苫小牧では *Arthrobacter* sp.と *Massilia* sp.がアセチレン還元量と連動して検出された。一方、古細菌叢解析では、取得したほぼ全ての塩基配列が Thaumarchaeota 門古細菌群と近縁であった。Thaumarchaeota 門古細菌にはアンモニア酸化能を有す分離株が幾つか報告されており、これらの窒素循環への寄与が示唆されている。

2) Thaumarchaeota 門 16S rRNA 遺伝子全長解析 古細菌叢解析によって取得した部分塩基配列から、主要なバンドを与えた数株について特異的プライマーを設計し、ユニバーサルプライマーとの組合せで培養物中の Thaumarchaeota 門古細菌 16S rRNA 遺伝子全長の解読を試み、1.3 kbp の解読に成功した。これは *Candidatus Nitrosotalea devanattera* と 94%の相同性を示した。

4. 結論

北方圏森林土壌において、土壌微生物群集の窒素固定は現地土壌の可溶性有機炭素濃度に依存することが示された。温暖化に伴う可溶性有機炭素供給の増加によって土壌微生物群集の窒素固定量が低下し、近傍の窒素循環が変動する可能性がある。また、北方圏森林土壌では Thaumarchaeota 門古細菌がアンモニア酸化を担っていることが示唆された。今後、窒素循環に関わる微生物種の分離・機能解析や土壌微生物群集と近傍の植生との関係についての研究の進展が期待される。