

## 亜酸化窒素 (N<sub>2</sub>O) ホットスポット土壌からの

### N<sub>2</sub>O 消去微生物の探索およびそれらの N<sub>2</sub>O 消去経路の解明

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 高津 祐太

#### 1. はじめに

亜酸化窒素 (N<sub>2</sub>O) は、等モルあたり二酸化炭素の約 300 倍もの強さを示す温室効果ガスであり、21 世紀最大のオゾン層破壊原因物質ともされる安定な気体である。農地からの N<sub>2</sub>O 放出量は全体の約 7 割を占めるとも言われ、圃場への大量の化成窒素肥料の投入が N<sub>2</sub>O 放出の遠因となっている。多数の報告で、農地や酸性土壌からの N<sub>2</sub>O 放出は、N<sub>2</sub>O 還元酵素遺伝子に欠陥があるか、あるいはその遺伝子自体が欠落した脱窒細菌群がおこなう硝酸塩呼吸 (不完全な脱窒反応) によって生じるとの指摘がなされている。このような不完全脱窒により、70~90% の N<sub>2</sub>O が生成しているとされる。一部の完全脱窒細菌には、土壌ガス中の微量の N<sub>2</sub>O を硝酸塩呼吸系の最終電子受容体として利用し、N<sub>2</sub> を最終産物として大気中に放出するものもあり、これらの一連の土壌微生物の振る舞いは、土壌がもつ C/N 比調節能に組み込まれたものであるとの指摘もある。従って、高濃度の N<sub>2</sub>O を発生する土壌に棲息し、むしろ低い C/N 比を好む土壌細菌の中には、土壌から急激に散逸する N<sub>2</sub>O 窒素を系内に留めるべく、土壌ガス中の N<sub>2</sub>O を積極的に取り込み、資化的に窒素源として利用するものが存在するのではないかと考えた。本研究では、北海道大学附属静内牧場内の化成窒素肥料投入コーン畑圃場の黒ボク土壌およびフィンランド・パルサ崩壊地土壌より、N<sub>2</sub>O 消去細菌の探索と、それらの N<sub>2</sub>O 消去経路の解明を試みた。

#### 2. 方法

北海道大学附属静内牧場の化成窒素肥料投入コーン畑圃場から 2016 年 4 月下旬に黒ボク土壌を、また、フィンランド、キルピスヤルビ周辺のパルサ崩壊地から 2018 年 9 月上旬に分解進行泥炭土壌を採取し、これらを 4°C で保存したものを使用した。土壌 10 mg 新鮮重を 10 mL Milli-Q 水に懸濁し、懸濁液 100  $\mu$ L を N<sub>2</sub>O 生成アッセイ用ジェランガム培地に接種後、7~14 日間培養した。ヘッドスペースガス (22.6 mL) を ECD-ガスクロ分析にかけ、N<sub>2</sub>O 消去細菌の探索を行った。経時的に N<sub>2</sub>O 生成・蓄積量の変動をモニタリングした。幾つかの培養物では、培養初期に蓄積した N<sub>2</sub>O (1000 ppm レベル) の急激な減少が観察された。これに標準ガスとして用いている高純度 N<sub>2</sub>O を終濃度 3000 ppm になるようヘッドスペースに注入後、さらに 2 週間 25°C で培養したところ、幾つかの培養物で明瞭な N<sub>2</sub>O 消去が認められた。次世代シーケンサーによる菌叢解析を含め、消去細菌の探索を試みた。分離細菌株の単独培養試験では、2 株で N<sub>2</sub>O 消去が確認された。

#### 3. 結果と考察

分離細菌株単独培養試験により、北大附属静内圃場から N<sub>2</sub>O 消去細菌として、*Chitinophaga* sp. SZ-d 株を同定した。アセチレン阻害試験により、N<sub>2</sub>O 消去の完全抑制を確認できたものの、*nosZ* および *narG* 遺伝子の保持は確認されず、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>からの N<sub>2</sub>O 放出も認められなかった。そのため、SZ-d 株は N<sub>2</sub>O を N<sub>2</sub> へと還元する経路ではなく、全くの別経路で消去していると推察した。フィンランド、キルピスヤルビ周辺のパルサ崩壊地から N<sub>2</sub>O 消去細菌として分離同定に成功した *Rhodococcus* sp. も、北方攪乱泥炭地での N<sub>2</sub>O 放出を抑制する生物資材として有望と考えられる。