

P-143

低アンモニア条件下での土壌還流法におけるアンモニア酸化菌の動態解析

○金本 美穂, 西澤 智康, 太田 寛行

茨城大学

E-mail: miho.kanemoto.mk@vc.ibaraki.ac.jp

アンモニアから亜硝酸への酸化はアンモニア酸化バクテリア (AOB) 及びアンモニア酸化アーキア (AOA) が担っている。アンモニアモノオキシゲナーゼ α -サブユニット (*amoA*) 遺伝子のメタゲノム解析等により、海洋や土壌において AOA が優先していることが示されてきた。しかし、AOA の分離例は少なくその生態的役割については十分にわかっていない。先行研究において特有の AOA が優先していることが示された自然農法畑地土壌を用いて、 $200 \mu\text{M}$ NH_4Cl 水溶液での連続的に土壌還流を行ったところ AOB の優先がみられた。AOA は AOB の生育限界以下のアンモニア濃度でも生育可能な種が存在することが示されており、本研究では AOA の集積を目的とし、より低アンモニア濃度で土壌還流を行い、AOA 及び AOB の動態解析を行った。畑地土壌 25 g を含むカラムに、400 mL の $100 \mu\text{M}$ NH_4Cl 水溶液を 30°C で還流させた。還流液は 200~800 時間毎に交換した。カラムより採取した土壌、還流液、還流装置中に発生したバイオフィームから DNA を抽出し、PCR により AOA-*amoA* 及び AOB-*amoA* の増幅を確認した。また、土壌及び還流液のアンモニア濃度を測定した。還流開始後 1000 時間の還流土壌においては AOA、AOB 双方の *amoA* の PCR 増幅が確認されたが、還流液では AOA-*amoA* のみの PCR 増幅が確認された。このときのアンモニア濃度は還流土壌では $98 \mu\text{M}$ 、還流液では検出限界以下であった。AOA は還流液中に分散するが、AOB はアンモニア濃度の高い土壌中にとどまっていたと考えられる。また、還流開始後 1500 時間のバイオフィームでは AOA-*amoA* のみ PCR 増幅が確認された。バイオフィーム中の AOA をさらに集積するため、土壌カラムを取り除き、連続的に NH_4Cl を添加して還流を行ったところ、1200 時間後にはアンモニア消費及び AOA-*amoA* の PCR 増幅が確認されなくなり、バイオフィーム中において AOA は連続的なアンモニアの供給のみでは生育できないことが示された。今後、微生物群集構造解析を行い、低アンモニア還流土壌系における AOA 及び AOB の動態をさらに解析する予定である。