

P-143

低アンモニア条件下での土壤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、海洋や土壤において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壤を用いて、200 μ M NH_4Cl 水溶液での連続的に土壤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壤還流を行い、AOA及びAOBの動態解析を行った。畑地土壤 25 gを含むカラムに、400 mLの100 μ 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壤、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、土壤及び還流液のアンモニア濃度を測定した。還流開始後1000時間の還流土壤においては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壤では98 μ 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壤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、土壤カラムを取り除き、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壤系におけるAOA及びAOBの動態をさらに解析する予定である。