

芳香族化合物資化パターンに基づく土壤微生物群の特性評価

Umi Marwati, 豊田剛己、船坂敬子、片山新太

(名古屋大学大学院生命農学研究科)

単一基質の資化能プロファイルに基づいて土壤微生物群を特徴づける試みがされている。異なる基質の入った96穴プレート(市販品、Biolog)に土壤希釀液を加えて培養し、基質の酸化分解の際に働くデヒドロゲナーゼ活性を検出する方法である。問題点も多く指摘されているが、対象とする土壤微生物群の資化能の多様性評価が簡便にできるため、種々の場面で応用が試みられている。得られた結果を土壤微生物群の資化能プロファイルとして評価する際の制約条件として、添加する菌数、培養時間、温度などが一定であることが挙げられている。ところで、市販のプレートは、元々細菌の同定用に作ったもので、基質は土壤環境中に多く見られるものではない。そのため、土壤微生物群に適用した場合、得られる資化能プロファイルの意味が、はっきりしなかった。そこで、本研究では基質を自由に変更できる自作プレートを用い、土壤にも多く存在し且つ農薬分解に関連の深いフェノールおよび安息香酸誘導体の資化能を評価し、更に芳香族化合物資化活性に対する施肥管理の効果を調べることを目的とした。

24穴の滅菌プラスチックプレートに1.5mlの無機塩培地、土壤希釀液(希釀率 10^{-4})0.3ml、0.2ml芳香族化合物(最終濃度0.05mg/L)、0.125mlの0.4%のp-iodonitrotetrazolium violet溶液を加え、22℃で72時間培養した。発色の程度をプランクと比べることにより、芳香族化合物の炭素源としての利用(資化)能力の有無を判定することができた。この培養条件では細菌、糸状菌ともに増殖したため、両者の活性評価を行うことができた。資化能への糸状菌の寄与はシクロヘキシミドを用いて評価した。また、Biolog社の eco-microplateも同時に試験した。この場合、培養時間を48時間とした。土壤には、異なる施肥管理が行われている名古屋大学附属農場の畑土壤を用い、土壤中のフェノール性酸をアルカリメタノール加水分解後、FIDガスクロマトグラフィーで定量した。

施肥管理の異なる土壤間で資化能パターンが異なった。堆肥を連用した土壤微生物群は、化学肥料区土壤の微生物群が資化能を示したp-ヒドロキシ安息香酸等10種類の芳香族化合物に加えて、フタル酸等の5~8種類の芳香族化合物に対して資化能を示した。この資化能の多様性增加は、主に糸状菌によるものであった。一方、土壤中のフェノール性酸の含量と資化能の間には、明確な関係は見られなかった。

“Characterization of microbial community in soil based on the utilization pattern of aromatic compounds” Umi Marwati, Koki Toyota, Keiko Funasaka and Arata Katayama (Nagoya University, Graduate School of Bioagricultural Sciences)