

鉄還元能をもつ好熱性偏性嫌気性細菌の水田土壌からの分離

せと ともこ うえき あつこ うえき かつし
瀬戸知子・[○]上木厚子・上木勝司

山形大・農・生物資源

【目的】生物地球化学やバイオレメディエーションへの関心から、鉄還元細菌に対する注目が近年高まっており、酢酸塩を電子供与体としてFe(III)をFe(II)に還元できる新規の偏性嫌気性鉄還元細菌(*Geobacter*, *Geovibrio* 属等)を含む鉄還元能を持つ多様な細菌が、各種底泥や石油で汚染された帯水層等から分離されてきている。これらの鉄還元細菌は鉄還元のための電子供与体として、酢酸塩やH₂の他、脂肪酸や芳香族化合物等を用い、これらを完全酸化するか不完全酸化する。我々は水田土壌中におけるメタン生成に関わる微生物群集に関する検討を行ってきているが、鉄還元はその発達において鍵ともなる位置を占めると考えられる。我々は、湛水後の水田土壌における鉄還元とメタン生成に対する温度の影響の違いについて検討する過程で、鉄還元能をもつ好熱性の偏性嫌気性細菌が水田土壌中に分布することを明らかにし、集積培養によりこの好熱性細菌を分離したので報告する。

【方法】水田土壌は、山形農試庄内支場の稲わら施用区水田から採取した。土壌試料を等量の嫌氣的希釈液と混合したものを土壌スラリーとし、これをN₂ガス下で試験管に分注してから異なる温度で保温し、各温度におけるメタン生成と鉄還元の時間経過を追った。鉄還元細菌の集積培養はFe(III)源としてFe(III)-NTAを含み、異なる電子供与体を添加した鉄還元細菌用培地を用いて65℃で行い、これより嫌気性ロールチューブ法により鉄還元能をもつ細菌株を分離した。培養は全てO₂除去N₂ガス気流下で行い、Fe(II)濃度はフェロジン法で測定した。(NTA: nitrilotriacetic acid)

【結果】非作付け期の水田から採取した土壌を用いて調製した土壌スラリーを嫌氣的に保温することにより、その鉄還元の進行を概ね再現性良く追うことが可能だった。鉄還元あるいはメタン生成の電子供与体としてH₂を添加するかあるいは無添加で土壌スラリーを温度を変えて保温すると、メタン生成は20℃以下では非常に微弱で40℃から45℃に最高速度を示したが、50℃以上では顕著に低下した。一方鉄還元は15℃から80℃までの幅広い範囲で進行し、40℃付近と70℃付近に二つのピークを示した。オートクレーブした土壌を同様に保温しても鉄は還元されなかった。湛水中の水田から採取した土壌を用いた保温実験でも、60℃から80℃における鉄還元の進行を確認できた。好熱性の鉄還元細菌の分離を目的に、各種電子供与体を用いて鉄還元細菌の集積培養を65℃で開始したところ、ピルビン酸塩を用いた場合にのみ鉄還元能を示す集積培養の安定した継代が可能だった。これより分離したTPI株はピルビン酸塩、乳酸塩、セリン及びH₂を電子供与体として65℃で鉄を還元した。16S rRNA 遺伝子の塩基配列の比較から、TPI株はlow (G+C) グラム陽性グループの偏性嫌気性細菌である*Thermoanaerobacter* 属に近縁に位置づけられた。本菌株はグルコースを発酵してエタノールを主要な生成物としても増殖でき、本来は発酵性の好熱性細菌であると考えられた。