

タイトル：幌延地域における深部地下環境由来の微生物集積培養物によるフミン酸の分解

Title: Humic acid degradation by an enrichment culture originated from deep subsurface environment in Horonobe, Hokkaido, Japan.

○上野 晃生¹、清水 了¹、玉村 修司¹、遠藤 亮¹、高田 迪彦¹、大味 泰¹、長沼 毅²
(¹幌延地圏環境研究所、²広島大院・生物圏科学)

○Akio Ueno¹, Satoru Shimizu¹, Shuji Tamamura¹, Ryo Endo¹, Michihiko Takada¹, Yasushi Oomi¹, Takeshi Naganuma² (¹H-RISE, ²Hiroshima Univ.)

【目的】腐植物質は陸域・水域環境に普遍的に存在する有機物質であり、土壌有機物の主要分画を成している。腐植物質は種々の官能基(-COOH、-OH、-NH₂など)を有する分子量 10²~10⁶ の不均一な混合物から成る難分解性高分子物質であり、微生物の炭素源としての利用性は非常に低いと考えられる。しかしながら、白色腐朽菌や放線菌において腐植物質分解能を有する菌の報告があることから^{1,2}、土壌中での腐植物質の代謝回転に重要な役割を果たしていることが示唆される。本研究では腐植物質の主要分画であるフミン酸(HA)をモデル物質として用い、幌延深部地下環境水を接種源とした集積培養物により HA 分解が生じるかどうかの検証を行った。

【方法】日本原子力研究開発機構(JAEA) 幌延深地層研究施設(以下幌延 URL)換気立坑 250m から地下水(微生物密度 4.0×10⁵±3.5×10⁴cell/ml)を採取し、Sigma-Aldrich 社製 HA(以下 SA-HA)を唯一の炭素源とする数種の合成培地を用い、好気および嫌気条件にて 2~3 ヶ月間集積培養を行った。微生物の増殖が確認された培地より全 DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子クローンライブラリーの作成と塩基配列に基づく系統解析により微生物群集構造を調べた。SA-HA および幌延 URL 珪藻質泥岩より抽出した HA(以下 K-HA)を用い集積培養物添加による HA 分解実験を行った。培地中の HA 分解は 450nm による褪色の定量および高速液体サイズ排除クロマトグラフィー(以下 HPSEC)にて調べた。

【結果】好気条件での集積培養物中の微生物群集構造を調べたところ、Methanogenium培地において*Pseudomonas stutzeri*に近縁な細菌が優占して成長していることが分かった。嫌気条件での集積培養では微生物の成長が認められず、さらなる培養期間が必要と考えられた。好気条件での集積培養物添加によるHA分解実験を行ったところ、培養1週間目にHAの褪色が観察された。450nm による褪色の定量を行ったところ、SA-HAおよびK-HAのどちらを用いた場合も、微生物を加えない対照群に比べ実験群では有意な減少が観察された。さらにHPSEC分析によるHAの分子量分布を調べたところ、対照群と比較し実験群のHA主ピークの保持時間の遅延が認められ、集積培養物添加によりHAが低分子化していることが分かった。

現在、地下環境由来の微生物集積培養物でのHAの低分子化現象をさらに詳細に解析するため、HAを利用する可能性のある細菌の単離を試みている。

【参考文献】¹Grinhut *et al.*, (2011) Environ. Sci. Technol. 45, 2748-2754.; ²Dari *et al.*, (1995) FEMS Microbiol. Ecol. 16, 115-122.