

# 土壌-根圏微生物群集の生態と機能に関する研究

境 雅夫 (鹿児島大学農学部)

根圏とは、植物根とその影響下にある極めて根に近い範囲の土壌部分である。そこに生息する根圏微生物は、植物根に対する直接・間接の作用により植物の生育や健全性に様々な影響を及ぼしている。したがって、根圏微生物群を植物の生育や健全性にとって好適な状態に調節するという観点から、根圏微生物群の多様性や活性に影響を及ぼす要因とその作用を明らかにする必要がある。そこで、根圏における植物・土壌・微生物の間に存在する様々な相互作用“根圏相互作用 (Rhizosphere interaction)”を明らかにする研究を進めている。

## 1) 土壌の影響

野菜類の集約栽培にとまなう土壌の塩類集積によって生じる微生物群集への影響をハウレンソウ栽培施設土壌において調べた。その結果、塩類集積は、特に蛍光性シュードモナス群の根圏での菌数および多様性を大きく減少させた。これは土壌の塩類集積が蛍光性シュードモナスの根圏定着にストレス要因として作用することを示している。

そこで、塩類ストレスによる影響を蛍光性シュードモナス群集の菌株レベルでの変化として調べるため、塩類集積土壌のハウレンソウ根面から分離した菌株 (HR 菌株) および対照の非集積土壌のハウレンソウ根面から分離した菌株 (LR 菌株) の増殖に及ぼす無機塩類の種類、濃度の影響を比較した。その結果、増殖を最も阻害したのは  $Ca^{2+}$  であり、しかも HR 菌株よりも LR 菌株の増殖をより強く阻害した。以上の結果から、長期の集約栽培によりカルシウム集積が進んだ土壌では、根面の蛍光性シュードモナスのほとんどは  $Ca^{2+}$  耐性菌株であり、 $Ca^{2+}$  耐性はこのような土壌環境での根圏定着に必要な競争要因の一つであると推定した。

## 2) 植物の影響

植物の影響としては、連作障害の問題と関連して、栽培体系が根圏微生物多様性に及ぼす影響も重要である。そこで、同一植物を同じ土壌で連続的に栽培したときの根面および土壌における細菌群集構造の変化を調査した。16S rRNA 遺伝子の T-RFLP 解析により、各サンプルの細菌群集構造の変化を評価した。非根圏土壌では細菌群集構造の変動が少なかった

が、根面においては大きな変動が確認された。また、根面において大きく変動する細菌種の特性を Clone Library 法で行った結果、根面の細菌群集は、主に CFB グループと *Proteobacteria* から構成されていたが、連作によって、特に  $\beta$ -*proteobacteria* の細菌種が増加し、CFB グループは減少する傾向にあった。

## 3) 微生物間の相互作用

### ① 異種細菌による増殖促進

植物根圏から分離した寒天分解細菌 KA5、SA29、YU21 は、16S rRNA 遺伝子の PCR-DGGE 解析により、根粒菌に属する細菌 A と寒天分解能を持つ新種の細菌 B からなる異種細菌共存系であることを見出した。また、細菌 B は単独では増殖力が弱く培養が困難であるが、根粒菌 (細菌 A) と共存培養することで増殖が促進された。系統分類の結果、この 3 種の細菌 B は同種に分類され、新種として *Steroidobacter agariperforans* と命名した。また、根粒菌である細菌 A の産生する増殖促進物質は、両性、水溶性の性質を示す分子量 10,000 以下、熱安定性の物質であることを明らかにした。

### ② 異種細菌による栄養共生

雑草等の刈草のみを原料とした場合、C/N 比が高いため堆肥化に時間がかかる。よって、一般的には堆肥化を促進するため、窒素成分を添加して C/N 比を下げるが行われる。しかし、特定の刈草原料では堆肥化過程の初期段階において細菌による窒素固定が生じており、窒素成分を添加することなく堆肥化が進行することを見出した。また、この刈草試料を、セルロースを唯一の炭素源とした液体培地に添加・培養したところ、細菌によるセルロース分解に伴って窒素固定が進行することを見出した。

この微生物システムの解析結果から、植物内生窒素固定細菌は植物体内において共生的窒素固定により宿主植物に窒素成分を供給し、植物枯死後は植物遺体中でセルロース分解細菌と栄養共生関係を確立して窒素固定を行い、窒素成分をセルロース分解細菌に与えていると考えられた。すなわち、内生窒素固定細菌は植物生育中ばかりでなく、植物枯死後も生態系への窒素供給に役割を果たしていることを示した。