

土壌および河原に分布する鉱物粒子内部の
微生物の生態と有機物の年代

北島富美雄¹⁾、服部 勉²⁾

1) 九州大学 大学院理学研究院 地球惑星科学部門

〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

TEL 092-642-2662, FAX 092-642-2684, E-MAIL kitajima@geo.kyushu-u.ac.jp

2) アティクラボ

〒980-0813 仙台市青葉区米が袋 1-6-2-401

TEL・FAX 022-266-1028, E-MAIL atic-tr@dd.iij4u.or.jp

1. はじめに

土壌中には多くの微生物が棲息している。しかし、その大部分（99%以上）の微生物の生態については、まだよくわかっていない。なぜならば、従来、微生物の研究には“培養”という操作が必須の前提であった。すなわち、培養して増殖しなければ、その微生物の存在自体が認識されなかったのである。また、“適当な”条件を与えれば、微生物は増殖するということが当然と考えられてきた。しかし、蛍光色素による染色を用いた顕微鏡による直接観察や、環境中の 16SrRNA の分析によれば、自然界には培養できない微生物が多数存在しており、培養可能な微生物は全体の 1%以下にしかすぎない（たとえば、木暮 1997）。この“培養できない”ものの中には、“培養の方法がまだわからない”ものも含まれてはいるが、それだけでなく、“もともとあまり増殖をしない”ものや“増殖をしない生理状態に陥っているもの”が数多く含まれている。上に述べた土に棲む微生物の多くも、このような培養できない微生物たちであると思われる。今回筆者らは、以下に述べる、多数の細菌が存在する土壌や河原の鉱物粒子に注目し、その中の炭素循環について年代測定の方法から考察を試みてみた（北島ら 2001）。

2. 土壌の団粒構造と微生物

土壌中に棲息する微生物たちは、実験室で使われる液体培地や固体培地とは大きく異なる微細な土の構造の中に棲んでいる。土の内部には大小様々な孔隙が存在しているが、この孔隙系が微生物の生活空間となっている。最も重要な空間は、径数百 μm 以下の孔隙である。この孔隙系は、次に述べる土の団粒構造（たとえば、服部・宮下 1996）によって形づくられている。土の粒子の骨格は、粘土粒子、微小な砂（シルト

と微砂)、高分子有機物である。最も小さい土の粒子は粘土粒子が凝集したもので数 μm 程度の大きさである。この一次粒子が鉄やマンガンの酸化物および高分子有機物(腐植)によってさらに大きい二次、三次の粒子を形成する。こうしてできる直径 $10\sim 60\mu\text{m}$ 程度の土粒子の凝集体はマイクロ団粒と呼ばれる。このマイクロ団粒は水中に分散させても安定である(図1)。径 1mm に達しても水中で安定な場合もある(Hattori 1988)。マイクロ団粒を構成する微小な砂はこれまで無生物的存在と考えられていた。しかし、最近、服部によって多数の細菌が存在することが見出された(Hattori 2000b)。

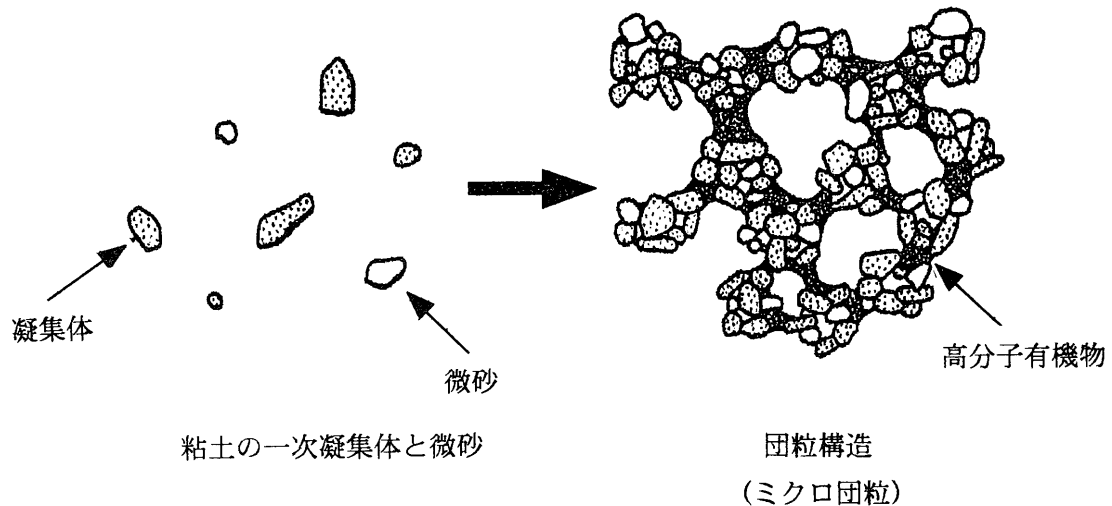


図1. 土壌の団粒構造(服部 1987 一部改変)

マイクロ団粒は細菌の分泌する多糖類や糸状菌の菌糸などの凝集、結合作用によって、より大きな、直径 $250\mu\text{m}$ 以上のマクロ団粒を形成する。マクロ団粒の形成で新たにできる孔隙、つまりマイクロ団粒間の孔隙は、径 $10\mu\text{m}$ 以上となる。マクロ団粒は水中で分散し、マイクロ団粒になりやすい。

糸状菌や原生動物は、マイクロ団粒内には入れず、外部の比較的大きな孔隙で生活している。細菌はマイクロ団粒の内外に存在する。マイクロ団粒外部の大きな孔隙では、湿潤な時、細菌が活動し増殖すると共に、細菌を餌とする原生動物の活動が活発になる。乾燥状態では、糸状菌の活動が中心となる(Hattori 1988)。一方、マイクロ団粒内の孔隙では、外部から水分や栄養物を補給しても細菌の増殖は僅かであり、原生動物による捕食からも乾燥による死滅からも細菌は守られる。すなわち、細菌の生活空間は、

(1) 化学活動を活発に営み、個体数を激しく変動させるマイクロ団粒外部の「より大きい孔隙」と、(2) 化学活動も個体数も余り変動せず、多様な細菌が安定して存在するマイクロ団粒内部の「より小さい孔隙」に分化している(Hattori 1988)。

ミクロ団粒から粘土や腐植を取り去ると、後に鉱物粒子が残る。この粒子は、石英、オパールなどの珪酸塩鉱物を主体とした半透明性の鉱物からなる p 粒子と、それ以外の鉱物、たとえば、玄武岩の砂粒などの各種珪酸塩鉱物からなる不透明な a 粒子とに分けられる (図 2)。

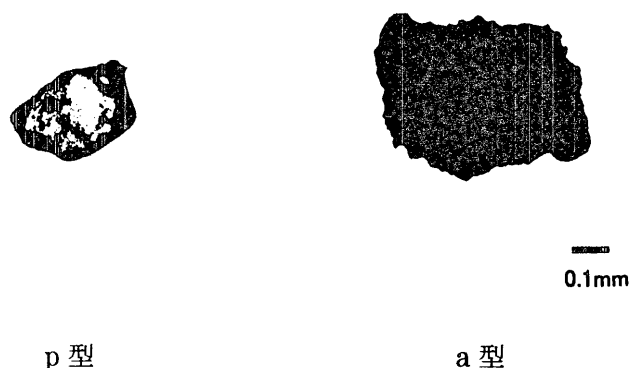


図 2. ミクロ団粒から得られた鉱物粒子 (熊の堂)

両粒子とも内部に顕微鏡法で約 10^5 、平板法で $10 \sim 10^3$ Cells の系統的に多様な細菌が存在している。この多様な細菌を含む粒子内部では、細菌は鉱物微結晶・粒子に取り囲まれており、細胞質は一種の珪化状態にあると思われ、化学的活動や分裂は殆どしない。しかし、偶然、一部の細菌が分裂状態に移行すると、細胞内の超微細粉が溶けて消失しつつ、分裂が始まり、その細菌は粒子外に放出される。放出された細菌は外部が好適であれば活動し、増殖する。また、この粒子の内部細菌は、粒子内部では相当長期間、増殖抑制状態で生存するものと考えられる。すなわち、この鉱物粒子は多様な細菌の共生的貯蔵庫として、地質学的な長時間、その役割を果たしている可能性がある。また、この粒子は塵として空中を拡散すると共に、埋没して地底深く分布する。また、土から溶脱され、河川を經由して川岸、海底に運ばれ、堆積する (服部 2000a)。

3. 鉱物粒子とその炭素循環・有機物の年代-----今回の実験の目的

上で述べたように、鉱物粒子が細菌の貯蔵庫としての役割を果たしているとするならば、この粒子は完全ではないにせよ、ある程度閉鎖系をなし、粒子内部と外部との物質の交換はある程度制限されているはずである。すなわち、一度粒子内部に取り込まれた炭素は粒子の内部だけで循環する。従って、たとえ粒子を地表近くから採集してきたとしても、その炭素の年代は、現在の値とは異なった古い値を示すはずである。

この予想に基づいて、筆者らは河原で採集した鉍物粒子の AMS 年代測定を行い、“細菌の貯蔵庫”としての、この粒子の役割の検証を試みた。

4. 実験

年代測定に用いたのは、仙台市を流れる広瀬川の河原で採集した a 型粒子である。試料調製は通常の方法に従った。この粒子 18.3640g を 1.2N HCl で 2 回、1.2N NaOH で 5 回、さらに 1.2N HCl で 2 回、加熱抽出した後、蒸留水で洗浄した。処理後の粒子を乾燥し、石英管に CuO と共に封入して加熱した。発生した CO₂ を精製後、H₂ で還元し、グラファイトとした。これを加速器質量分析計 (AMS) で測定し、¹⁴C 年代を求めた。

5. 結果と考察

広瀬川 a 型粒子内の有機物の年代は 17,100 年 ± 60 BP と求められた。また、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は -23.4 ± 0.1 ‰ である。土壌有機物の年代が 10,000 年よりも古いことは稀であるとされている (筒井 1994) ことと比較すれば、今回得られた年代は異常に古い年代であるということが言える。今回得られた年代とその他の土壌有機物の年代を表 1 に示す。

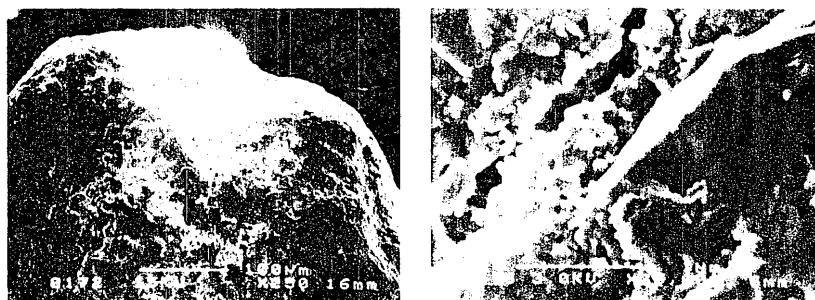
表 1. 鉍物粒子の年代値および代表的な土壌有機物の年代

鉍物粒子内の有機物の年代			
広瀬川a型粒子	17,100 ± 60		
その他の土壌有機物の年代 (筒井 1994より引用)			
土壌有機物画分名	チェルノーゼム Ah層、40 - 50cm (Asel森林土壌)	埋没バラレンジナ bA層、200cm (Laach)	低位泥炭層 Hn層、80cm (Koishof)
未分画土壌	2,470 ± 70	10,600 ± 120	7,200 ± 110
ベンゼン抽出画分 (脂質画分)	3,220 ± 80	4,130 ± 100	3,290 ± 120
6M HCl 加水分解残渣	3,160 ± 70	11,360 ± 150	9,730 ± 170
6M HCl 加水分解液	104.4% Modern	2,510 ± 100	7,270 ± 140
フルボ酸	370 ± 70	1,140 ± 200	6,860 ± 250
腐植酸	2,100 ± 60	6,970 ± 970	8,810 ± 120
ヒューミン	2,460 ± 60	10,320 ± 140	7,110 ± 110
腐植酸のゲル濾過 (Sephadex G-500) による			
排除画分 (Mw > 30,000)	1,480 ± 60	6,110 ± 100	7,590 ± 120
浸透画分 (Mw < 30,000)	2,940 ± 90	6,830 ± 130	7,820 ± 90

今回の実験で得られた年代は、少なくとも一部の有機物は非常に長い間鉱物粒子内に保持されていたことを示している。つまり、初めに予想したとおり、この粒子は、ある程度炭素に関して閉鎖系をなしていた（しかもきわめて古い）ということを示唆している。この結果は、あくまで間接的な状況証拠ではあるが、粒子内部細菌の古さを反映しているとも考えられ、この鉱物粒子が細菌の貯蔵庫としての役割を担っているという筆者らの最初の考えを支持している。

6. おわりに

年代測定のための酸・アルカリ処理後のサンプルの薄片を作って、偏光顕微鏡で調べて見ると、少なくとも鉱物的には粒子の内部構造は大きくは変わっていない。また、走査電子顕微鏡で粒子表面を観察してみると、表面に巾数 μm 以下のクラックがあり、その隙間に、径 $1\mu\text{m}$ 以下の微小粒子がたくさん詰まっているのが観察される。川渡のp型粒子表面の電子顕微鏡写真を図3に示す。



粒子表面

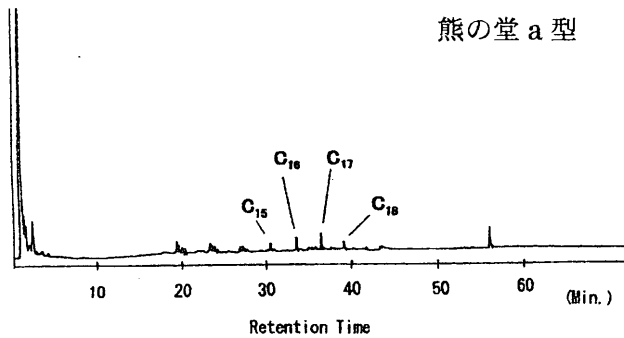
クラック

図3. 鉱物粒子表面の走査電子顕微鏡写真

このクラック中の粒子が、半ば珪化した細菌細胞である可能性もある。また、粒子内の有機物はどのような化合物かというのも興味ある問題である。試みに、いくつかの地点で採集した粒子を 333°C で3秒間瞬間的に加熱し、放出されてくる揮発性有機物をGCMSで調べてみたところ、熊の堂で採集したa型粒子からは、炭素数15~18の直鎖飽和炭化水素が検出された(図4)。また、クロマトグラムのピーク面積を基に、揮発性有機物の分量を見積もったところ、表2のような結果が得られた。a型の方が、p型よりも1桁、揮発性有機物含量が多い。もちろん、粒子中には、難揮発性の有機物も含まれていると予想されるので、これらの値は粒子中の炭素量の下限ということになる。今後、さらにこれらの有機物の分析を進めて行きたいと考えている。もちろん、今得られている年代のデータもまだ一つだけであり、今後、さらにサンプルの数

を増やして、同じように、非常に古い年代が得られるのか確認する作業も必要である。いずれにせよ、今後、さらに有機物の年代測定という手段を通して、まだ、大部分が未知の段階にある土壌微生物の生態を明らかにしていきたいと考えている。

表 2. 粒子から得られた揮発性有機物収量



川渡 (p型)	3.5 ng/粒
川渡 (a型)	~43.3ng/粒
熊の堂 (p型)	6.2 ng/粒
熊の堂 (a型)	34.3 ng/粒
ミシガン林 (p型)	1.8 ng/粒
ミシガン畑 (p型)	1.5 ng/粒

図 4. 揮発性有機物のガスクロマトグラム

カラム : NB-5 30m × 0.25mm i.d.
 カラム槽温度 : 60 – 260°C、
 60°Cで 10 分保持後毎分 4°Cで昇温
 検出器 : FID キャリアーガス : ヘリウム

参考文献

- 北島富美雄、池田晃子、中村俊夫、服部勉 (2001) 第 17 回日本微生物生態学会講演要旨集 p.82.
- 木暮一啓 (1997) *Microbes and Environments* 12, 135 – 145.
- 筒井 潔 (1994) 仁王以智夫・木村真人ほか 土壌生化学 5.1 土壌有機物の特性と生成過程.
- 服部 勉 (1987) 大地の微生物世界.
- Hattori, T. (1988) *Rep. Inst. Agric. Res. Tohoku Univ.* 37, 23 – 36.
- 服部 勉 (2000a) 第 16 回日本微生物生態学会講演要旨集 p.141.
- 服部 勉 (2000b) 日本土壌肥料学会講演要旨集 第 46 集 p.34.
- 服部 勉・宮下清貴 (1996) 土の微生物学.

Microbial ecology and their carbon-cycle in mineral particles
from the viewpoint of ^{14}C dating.

Fumio Kitajima,¹⁾ and Tsutomu Hattori²⁾

1) Department of Earth and Planetary Sciences,
Faculty of Sciences, Kyushu University
Hakozaki, Fukuoka, 812-8581 Japan.

TEL 092-642-2662, FAX 092-642-2684, E-MAIL kitajima@geo.kyushu-u.ac.jp

2) Attic Lab,
Komegafukuro, Sendai, 980-0813, Japan .
TEL • FAX 022-266-1028, E-MAIL atic-tr@dd.iij4u.or.jp

^{14}C dating of the organic substance in mineral particles was performed. The particles were collected from the soil microaggregates distributed over the river-beach of Hirosegawa in Sendai, Japan. The particles are inhabited by 10^5 (direct count), or $10 - 10^8$ (plate count) cells of diverse microorganisms. The microorganisms have been thought to survive in the particles without remarkable growth or activity, and occasionally they are ejected from the particles and some strains of them begin to growth if the condition outside the particles is suitable for the organisms. The particles seem to become partial closed system, and the carbon exchange seems rarely occur.

The age was determined as $17,100 \pm 60$ BP. This age is remarkably old compared with other soil organics, of which ages are scarcely older than 10,000 BP. This result reveals that at least a portion of organics have been reserved for a long term in the particles, and supports the idea that the soil microorganisms can survive in the particles for a long term and that the particles can store diverse microorganisms.

学会・学会誌への発表論文

北島富美雄、池田晃子、中村俊夫、服部 勉 (2001) 土壌および河原に分布する鉱物粒子
(MMP)内の微生物とその炭素循環 第17回日本微生物生態学会講演要旨集 P. 82.