

# 土の凍結面近傍の微生物活性と位置の変化

○渡辺 晋生・伊藤実沙子（三重大生物資源）

Distribution and activity of microorganism in freezing soils

Kunio Watanabe and Misako Ito

**はじめに** 土の凍結・融解に伴う土壌微生物の活性の変化は寒冷地の農業や有効利用、あるいは気候形成を考えるうえで重要である。そこで本研究では、土の凍結過程を直接観察し、土中の微生物の位置と数量の変化を知ることを目的とする。

**試料と方法** 鉱物油分解微生物製剤（ゲイト, GHK-II）を蒸留水で飽和し、異なる含水比の試料とした ( $w = 0.7, 1.0, 1.3, 1.8 \text{ g/g}$ )。試料をガラスセル（容積  $26 \times 76 \times 3 \text{ mm}^3$ ）に詰め、sFDA 溶液（ $1 \text{ mmol/}$  エタノール L）を  $50 \mu\text{L}$  滴下した。sFDA は細胞内のエステラーゼで分解されると蛍光（ $520 \text{ nm}$ ）を発する試薬であり、土壌や死菌体を染色せず、生菌体のみを染める。試料セルの両端の温度を制御し、定温、および一方向凍結実験を行った。試料の凍結過程の様子を落射蛍光顕微鏡で観察し（IB 励起）、観察画像を CCD カメラを介してコンピュータに取込み、微生物活性と位置を解析した。

**結果と考察** まず、 $1^\circ\text{C}$  に慣らした試料を任意の温度まで 40 分かけて低下した後、一定温度に維持した。条件が同じであれば 120 分まではほぼ一定の蛍光が得られることがわかった。ここで、異なる含水比の試料の蛍光面積比（ $A_{T_c}/A_{1_c}$ ：観察視野（ $1650 \times 1250 \mu\text{m}^2$ ）内について、ある温度の蛍光面積を  $1^\circ\text{C}$  で観察した際の蛍光面積で除したもの）の温度依存性を調べた（**図 1**）。蛍光面積比は試料の温度低下に伴い減少した。この際、発光個所や数の変化はほとんど見られなかった。蛍光面積比の減少率は、 $0^\circ\text{C}$  を境に大きく異なった。また、 $0^\circ\text{C}$  以上においては、試料の含水比が高いほど蛍光面積比の減少率が大きくなり、含水比が低いと蛍光面積のばらつきが大きくなった。

次に、試料に温度勾配（ $0.25 \text{ }^\circ\text{C/mm}$ ）を与え、凍結面の進行に伴う蛍光面積比の変化を、アイスレンズ（IL）が析出する場合としない場合について調べた（**図 2**）。図の横軸は凍結面からの距離であり、低温側を負とする。蛍光面積は高温側で高く、低温側で低くなった。また、こうした傾向は IL 析出時に顕著であった。ここで、図中に図 1 と試料内の温度分布から算出した蛍光面積比を黒丸で示した。温度だけでなく、凍結面の進行にともなう熱・水移動が未凍土中の微生物活性に影響を与えていることが考えられる。

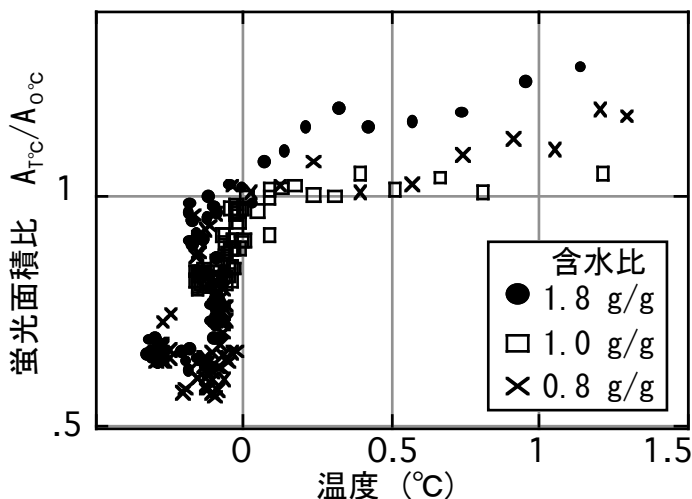


図 1 蛍光面積の温度依存性

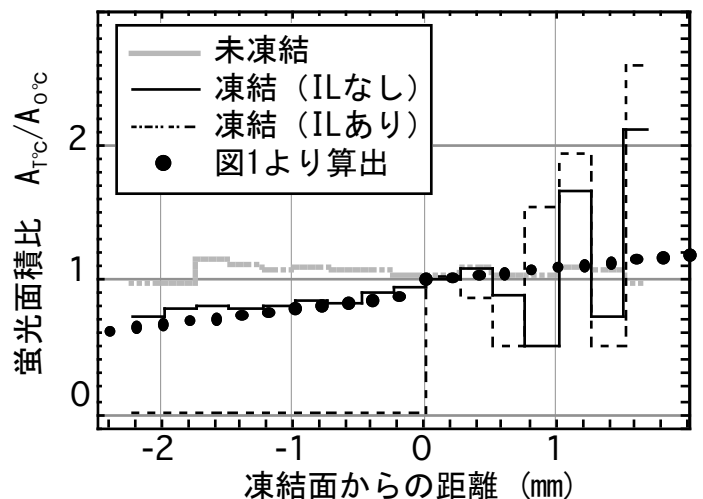


図 2 凍結面近傍の蛍光分布