

氏 名	やま なか たか し 山 中 高 史
学位(専攻分野)	博 士 (人間・環境学)
学位記番号	論 人 博 第 9 号
学位授与の日付	平成 14 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	アンモニア菌の増殖機構—動物の排泄物や死体の分解跡地が浄化される過程に関する実験菌学的研究

(主 査)
論文調査委員 教授 松井正文 教授 山本行男 教授 堀 智孝 教授 加藤 真
教授 津田盛也(農学研究科) 教授 小崎 隆(農学研究科) 講師 相良直彦
(京都工芸繊維大学)

論 文 内 容 の 要 旨

アンモニアや、分解してアンモニアを遊離する尿素などの物質を林地や草地に施与すると、その地表に一群の菌類—アンモニア菌—が生殖器官を形成(出現)する。そして、この出現には遷移現象が見られ、前期には腐生性の種が、後期には菌根性の種が出現することや、これらの菌類は自然条件下では動物の排泄物や死体の分解跡に出現することが知られていた。しかし、アンモニア菌類の出現に至る増殖の機構や、動物の排泄物や死体の分解跡に増殖することの意義についての、定量的な研究は行われてこなかった。本論文では、尿素を施与した場所を動物の排泄物や死体の分解跡のモデルとみなして、ここでのアンモニア菌の増殖機構を多面的に解析することによって、異常に窒素が豊富な状態にあるとみられる動物の排泄物や死体の分解跡が、通常の状態に戻る過程(浄化過程)におけるこれらの菌類の機能を考察した。

第1章では、林地に設けた尿素施与区におけるアンモニア菌の出現とその土壤環境を調査した。その結果、遷移前期には土壤中にアンモニア態窒素が多く水素イオン濃度(pH)は弱アルカリ性であったが、遷移後期にはアンモニア態窒素は減少して硝酸態窒素が増加し、pHは酸性側へ変化した。前期後期を通じて、土壤中の水溶性炭水化物は非施与区よりも少ない状態が続いた。全細菌(total bacteria)はアンモニア態窒素の増加に続いて増加し、その後に細菌食性とみられる線虫が増加した。硝化細菌の増加に伴って、アンモニア態窒素が減少し、硝酸態窒素が増加した。アンモニア菌の出現が起こる土壤の特徴として知られていた土壤表層の黒化は、アルカリ化による土壤腐植の溶出によることが判った。

第2章では、菌の出現とそれをもたらす土壤中の栄養菌糸の存在状態との関係を把握するため、尿素施与後いったん滅菌した土壤へ遷移前期菌の1種イバリシメジを接種してその増殖の経過を調査した。その結果、まず栄養菌糸が生長し、それに続いて子実体が生じたが、栄養菌糸量と子実体量との間には高い正の相関が認められた。尿素施与を行わずに滅菌した土壤では本菌は生長しなかった。これらのことから、アンモニア菌は野外の非滅菌条件下においても、尿素施与後に栄養生長を開始すること、換言すれば、尿素施与は土壤中にすでに存在した栄養菌糸への生殖生長刺激として作用するものではないことが示唆された。

第3章では、菌糸の生長の基礎条件であるとともに、遷移の要因ともなりうる栄養生理を理解するために、9ないし10種のアンモニア菌について、菌糸生長の最適pH、利用可能な窒素源、高分子有機物分解能を純粋培養下で調査した。その結果、遷移前期菌は最適pHが8~7であり、アンモニア態窒素、尿素、アミノ酸、および水溶性タンパク質を利用でき、高分子有機物の分解能力が高かったのに対し、遷移後期菌は、最適pHが6~5であり、前期菌が利用できた窒素源に加えて硝酸態窒素も利用できたが、高分子有機物の分解能は低かった。最適pHおよび利用可能な無機窒素の形態は、それぞれの菌が出現しているときの土壤のpHおよび増加している無機窒素の形態(第1章)にはほぼ合致していた。利用可能な無機窒素の形態および高分子有機物分解能の違いは、前期菌が腐生性であり、後期菌が菌根性であることによく対応していた。なお、腐敗現象の特徴的産物として知られるアミンは、アンモニア菌に利用されなかった。

第4章では、アンモニア菌イバリシメジにおける子実体形成の条件を純粋培養下で調べた。培地の窒素濃度が高いとき本菌は子実体を形成した。このことは、尿素またはアンモニア態窒素を多量に施与した土壌においてのみ本菌が出現することに符合する。窒素濃度とブドウ糖濃度がともに高いとき、本菌は子実体を形成せずに、子実体原基様の構造体の表面に担子基と担子孢子とを形成した。また、スライドグラスを用いた微小培養においても、子実体を形成せずに栄養菌糸から直接に担子基と担子孢子とを形成した。これらのことから、本菌は自然条件下において、子実体形成には適さないときでも、または小動物の排泄物や死体の分解跡のような局所におけるわずかな栄養生長によってでも、担子孢子を形成して生活環を全うできると考えられた。

第5章では、以上の結果をふまえて、アンモニア菌の増殖機構について総括し、動物の排泄物や死体の分解跡におけるこれらの菌類の土壌浄化機能について考察した。尿素施与後の初期には、土壌のアンモニア態窒素が多く pH は弱アルカリ性になるので、アンモニア態窒素をよく利用し菌糸生長の最適 pH を弱アルカリ性～中性に持つ種が増殖する。それらの種は、高分子有機物分解能力が高いので、水溶性炭水化物が減少した土壌条件に対応できる。やがて土壌のアンモニア態窒素は減少して硝酸態窒素が増加し pH は酸性になるので、アンモニア態窒素に加え硝酸態窒素をもよく利用し最適 pH を酸性側に持つ種が増殖する。それらの種は、高分子有機物分解能は低いですが、菌根を介して植物から炭水化物を得ることができる。このような性質を持つことによって、アンモニア菌は動物の排泄物や死体由来の様々な窒素化合物を吸収し利用するだけでなく、その一部を菌根を介して植物に転流する。アンモニア菌によるこのような窒素の回収と生態系内での循環こそが、動物の排泄物や死体の分解跡を浄化する機能であり、森林生態系の存続に対してアンモニア菌が果たしている役割と考えられる。なお、このアンモニア菌の増殖の背景には細菌が深く関わっているだけでなく、線虫その他の多様な土壌生物群集が関わっていることもうかがえる。

論文審査の結果の要旨

アンモニア菌とは、アンモニアや、容易に分解してアンモニアを生じる窒素化合物を森林や草地の地表に大量に施与したとき、そこに生殖器官を形成する（出現する）一群の菌類である。これらの菌類は自然条件下では動物の排泄物や死体の分解跡に出現するので、腐敗跡菌とも呼ばれる。その出現には遷移現象が見られ、森林の場合、前期には腐生的な種が、後期には樹木と共生する菌根性の種が出現する。これらの現象は世界的に共通であることが明らかになりつつあり、これまで約40種がアンモニア菌として報告されている。地球上の菌類は150万種にのぼるとも推測されているので、わずか40種のアンモニア菌は特異な存在として注目されるが、土壌中におけるその増殖の機構や、動物の排泄物や死体の分解跡に増殖することの意義については、定量的な研究が乏しかった。本論文のねらいは、生態系の中で窒素が局所的かつ一過的に、異常に豊富と考えられる動物の排泄物や死体の分解跡が、通常の状態に戻る過程（土壌浄化過程）におけるアンモニア菌の機能を明らかにすることである。しかし、自然条件下で計画的に動物の排泄物や死体の分解跡を発見し研究するのは困難であるため、本論文では、先行研究に準拠し、尿素を施与した土壌を動物の排泄物や死体の分解跡のモデルとみなしてさまざまな解析を行った。このモデル系においてアンモニア菌の増殖機構を明らかにし、それに基づいて動物の排泄物や死体の分解跡におけるこれらの菌類の土壌浄化機能を考察している。

第1章では、尿素を施与した森林土壌について、アンモニア菌群集の出現経過とそれに並行する土壌環境の変化とを調査している。その結果、菌の遷移の前期後期に対応して、土壌のアンモニア態窒素が多く水素イオン濃度（pH）が高い時期から硝酸態窒素が多く pH の低い時期への移行が認められること、水溶性炭水化物は前期後期を通じて非施与区よりも低い状態が続くことなどを明らかにした。また、窒素の形態変化に伴う細菌菌群集の変化を定量的に示し、さらに、細菌の増殖に伴って細菌食性と見られる線虫が増殖することも見出した。このように多岐にわたる調査から、尿素施与後の土壌条件とそこでの生物群集の推移について、ほぼ全体像を捉えていると考えられる。

第2章では、地表における生殖器官の形成（出現）と地中の菌糸の存在状態との関係を、アンモニア菌の1種イバリシメジについて調査している。その結果、土壌中で栄養菌糸が相当程度生長したのち子実体が生じること、そして子実体量と栄養菌糸量との間には高い相関があることを見出した。これは、出現という不確実性の高い事象と、出現の前提でありながら肉眼的に見えない栄養菌糸の生長とを、土壌系において定量的に関係づけたまれな実証例であるとともに、前章と次章とを

論理的に結びかつ支えるものである。

第3章では、地中の菌糸の生長原理となる栄養生理を知るため、アンモニア菌の培養実験を行っている。その結果、遷移の前期と後期に出現する種は、それぞれが増殖する時期の土壤環境（第1章）によく対応した性質を持つことを明らかにし、前期の種が腐生性であり後期の種が菌根性であることも裏付けた。なお、培養下でアミンはアンモニア菌に利用されないことも明らかにした。アミンは腐敗現象において特徴的に産出される物質なので、この事実は「腐敗跡菌」という用語の限界を示唆するものとして貴重である。

第4章では、菌の出現（生殖器官形成）の条件をイバリシメジについて純粋培養下で調べている。その結果、培地の窒素濃度が高いときに子実体を形成するだけでなく、栄養分の濃度が十分にある条件下ではたとえ培地が微量でも、子実体を形成しないまま担子基を形成し担子胞子を生じることを明らかにした。この知見は、本種が多量の窒素が賦与された土壤においてのみ出現することを裏付けるだけでなく、自然条件下において微小な局所を含む多くの機会に増殖しうることを示唆するものとして重要である。子実体形成を経ないで無性生殖をおこなうという生活環特性は、例が少なく特筆される。

第5章の総合考察では、アンモニア菌の増殖機構を、土壤中の窒素の形態と量の変化、それに伴う土壌 pH の変化、およびそれらに対応する菌の生理的性質の組み合わせによって説明している。その説明は、アンモニア菌の研究がはじまって35年を越える経過のなかで初めての体系的かつ説得力あるものであり、高く評価できる。そして、その説明に盛られた窒素源利用能や pH 適性に基づいて、動物の排泄物や死体の分解跡におけるアンモニア菌の土壤浄化機能を考察し、アンモニア態や硝酸態の窒素を効率的に回収して生態系内で循環させることがその機能の核心であるとした。このようにして、森林生態系の窒素循環について従来看過されてきた局所に光を当てたことは価値が高い。さらに、アンモニア菌の増殖環境には細菌その他の土壤生物群集も関わっていることを示し、排泄物や死体の後始末に関わる生物共生の研究対象を、土壤生物群集全体へと広げるべきであると主張したのは意義深い。

以上のように、本論文は、森林生態系において動物の排泄物や死体が朽ち果ててその姿を失った跡に出現するアンモニア菌の増殖機構をモデル系において明らかにし、これらの菌類の土壤浄化機能を考察したものであり、人間・環境学研究科自然・人間共生基礎論講座の研究目的の一つである「自然と人間との調和ある共生の可能性の探求」に大きく貢献したものである。

よって本論文は博士（人間・環境学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成14年3月11日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。