

表層から漸深海層における細菌現存量の鉛直分布

長沼 毅*¹ 池本栄子*¹ 鋤崎俊二*¹
辻 義人*¹ 堀田 宏*¹

潜水調査船「しんかい2000」の潜航調査に際して、浮遊細菌群集を表層から海底1960m（駿河湾）および1585m（日本海）までの各深度で採集し、浮遊細菌の現存量を全菌数およびリポ多糖類（LPS）濃度により測定した。この現存量は、深度が増すにつれて減少し、深度-現存量間には両対数グラフ上で直線関係が認められた。全菌数とLPS濃度の間には比例関係が認められ、一細胞当りのLPS含有量は 1.02×10^{-14} gであると推定された。

Vertical Distribution of Epi- to Bathypelagic Bacterial Abundance in the Northwest Pacific

Takeshi NAGANUMA*² Eiko IKEMOTO*² Shunji SUKIZAKI*²
Yoshito TSUJI*² and Hiroshi HOTTA*²

Mixed populations of marine free-living bacteria were collected at depths from surface to bottom of 1960m (the Suruga Bay) and 1585m (the Japan Sea) in the northwest Pacific, during the deep-sea diving by a submersible "SHINKAI 2000". Their abundance in the total cell counts and in the lipopolysaccharide (LPS) concentration was found to decrease with the increasing depth, and the decreasing profiles were shown to be linear in logarithmic scales. The total cell counts and the LPS concentration showed a linear correlation in arithmetic scales, and the LPS content per cell was found to be 1.02×10^{-14} g.

* 1 海洋科学技術センター 深海研究部

* 2 Deep Sea Research Department, Japan Marine Science and Technology Center. (JAMSTEC)

1. はじめに

細菌現存量の鉛直分布は、海洋微生物学の主要な調査対象の一つである。ZoBell らによる先駆的な研究により、深度が増すにつれて生菌数の減少することが見出されたが、この生菌数とは全菌数のわずか1%程度にしか相当しないと考えられている。一方、全菌数の計数は、メンブラン濾過と蛍光顕微鏡法の組合せにより、はるかに容易かつ正確になった (Hobbie et al., 1977)。しかし、この計数法は、漸進海層 (500から3000m 深) までの鉛直分布調査にはいまだ多く用いられていない。同じことが、近年発達した生化学的方法についても当てはまる。すなわち、多くの海洋細菌の生体構成成分であるリポ多糖類 (LPS) 測定法 (Maeda and Taga, 1979) は、海洋細菌現存量の鋭敏な指標になるのだが、その応用はいまだ多くない (例えば、Maeda et al., 1983; Mita et al., 1988)。

本稿では、潜水調査船「しんかい2000」を用いて、駿河湾 (1960m 深) 及び日本海 (1585m 深) における浮遊細菌の全菌数と LPS 濃度の鉛直分布を調査した結果を報告し、全菌数と LPS 濃度との相関関係から海洋細菌一細菌当りの LPS 含量を推定する。

2. 材料と方法

「しんかい2000」の潜航調査は以下の2海域で行われた。①駿河湾の駿河トラフ中軸部、2000m 深 (Dive 399, 400, 401)。②日本海の隠岐海嶺北西斜面、1600m 深 (Dive 433)。

浮遊細菌試料は潜水船に搭載した9連式バンドン採水器を用いて、以下のような深度で採取された。①駿河湾では90-100, 300, 1000, 1960m 深、表層試料は船上から採取した。②日本海では1, 10, 30, 50, 100, 300, 500, 1000, 1585m 深。バンドン採水器を使用する以上、表層水による汚染は免れないが、全菌数および LPS 濃度を対象とする限り、この汚染の影響は無視できるものと考えられる (R. Y. Morita 博士, Oregon 州立大学名誉教授, 私信)。

潜水船揚収後直ちに、全菌数計数用試料をポリ瓶に移し、ホルマリン固定した。深海では細菌数が少なく、わずかな雑菌混入でも計数上で大きな影響を与えるため、雑菌混入を極力防ぐようにし

た。すなわち、ポリ瓶は予め酸洗浄し高圧蒸気滅菌して使い、ホルマリンは孔径0.2 μ m のフィルターで濾過除菌し、最終濃度が2%になるように加えた。

固定試料5から50ml 中の細菌細胞は、孔径0.2 μ m のヌクレポアフィルター上に集められ、蛍光色素アクリジンオレンジで染色された後、蛍光顕微鏡下で計数された (Hobbie et al., 1977; Zimmermann et al., 1978)。雑菌は1視野当たり1細胞以下に抑えることができた。

LPS 濃度は日本海試料についてのみ測定された。LPS 測定試料は、250 $^{\circ}$ C で2時間加熱処理したガラス瓶に移され、測定までの間は-80 $^{\circ}$ C で凍結保存された。LPS 濃度は、市販の測定キット (トキシカラーシステム, 生化学工業) を用いたエンドスペシー法により、543nm の吸光度により測定した (Mita et al., 1988)。

3. 結果と考察

調査した両海域とも、全菌数は深度に対して対数的に減少し、深度-現存量の両対数目盛上で直線関係が見出された (図1 a)。この関係は以下の式で統計的に有意に表された。

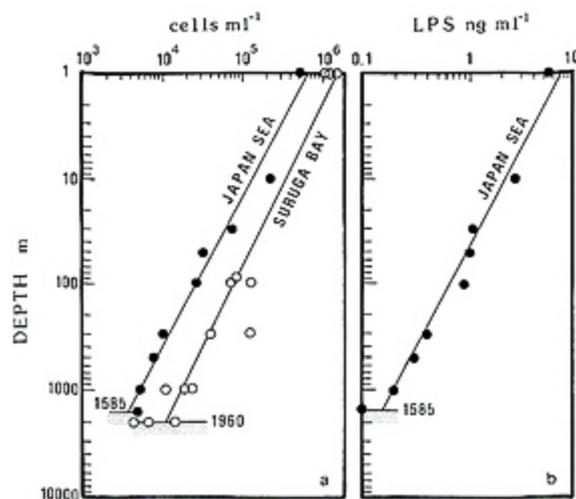


図1 a) 駿河湾と日本海における全菌数の鉛直分布; b) 日本海における LPS 濃度の鉛直分布。両対数目盛であることに注意。

Fig. 1 Vertical distribution of: a) the total bacterial count (cells ml^{-1}) in the Suruga Bay and the Japan Sea; b) the LPS concentration (ng ml^{-1}) in the Japan Sea. Note the logarithmic scales for the depth and the total counts or LPS concentration.

〔駿河湾〕

$$\log(\text{cells ml}^{-1}) = 6.20 - 0.65 \log(\text{depth m})$$
$$r^2 = 0.929, p < 0.01$$

〔日本海〕

$$\log(\text{cells ml}^{-1}) = 5.83 - 0.70 \log(\text{depth m})$$
$$r^2 = 0.976, p < 0.01$$

全菌数は、駿河湾では $10^6 \text{ cells ml}^{-1}$ (表層) から $10^3 - 10^4 \text{ cells ml}^{-1}$ (海上直上) の範囲にあり、日本海では $10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ (表層) から $10^4 \text{ cells ml}^{-1}$ (海底直上) の範囲にあった。駿河湾の全菌数の方がやや高いが、これは陸水流入による有機物負荷がやや高いためであると思われる。表層での全菌数はしばしば、公衆衛生や富栄養化の観点から、水質指標として用いられている。本調査による表層全菌数は、駿河湾で $1 - 2 \times 10^6 \text{ cells ml}^{-1}$ 、日本海で $5 \times 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ であり、貧栄養的な外洋で見出された値と同じ程度 (例えば、北フィジー海盆, Naganuma et al., 1989) であることから、両海域とも貧栄養レベルにあると考えられる。

いろいろな外洋域における海洋細菌の鉛直分布が報告されている (Carlucci and Williams, 1978; Tabor et al., 1981; Hobbie and Fletcher., 1988; Naganuma et al., 1989 など)。これらのデータは、深度が増すにつれて細菌現存量が対数的に減少することを示しているが、本調査結果はこれらのデータに対してやや低い方である。これは、本調査海域における有機炭素濃度が表層でも $1 - 2 \text{ mgC l}^{-1}$ 、低層では 0.5 mgC l^{-1} と低く、有機物負荷が弱かったためと考えられる (有機炭素濃度はベックマン TOC アナライザーを用いて測定した)。

本調査での海底直上全菌数は $10^3 - 10^4 \text{ cells ml}^{-1}$ であったが、これは2810m 深の海底で見られた値 (Morita, 1979) すなわち、 $10^6 \text{ cells ml}^{-1}$ (低泥-海水境界層) や、 $10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ (低泥から30cm 上) に比べて低い値である。海底に非常に近い層では全菌数は低泥に近づくにつれて多くなるようであるが、本調査でいう海底直上とは少なくとも海底から1.5m 上を指しているため、本調査では低い値が得られたものと思われる。

日本海で測定された LPS 濃度は、数 ng ml^{-1} (表層) から 0.1 ng ml^{-1} (海底直上) の範囲内に

あった。全菌数と同様に、LPS 濃度も深度が増すにつれて対数的に減少し、深度-LPS 濃度の両対数を取ると以下のような統計的に有意な直線関係が得られた (図 1 b)。

$$\log(\text{LPS ng ml}^{-2}) = 0.87 - 0.53 \log(\text{depth m})$$
$$r^2 = 0.968, p < 0.01$$

LPS 濃度と全菌数の間には、統計的に有意な直線関係が認められた (図 2; これは両対数目盛りではなく算術目盛りである)。

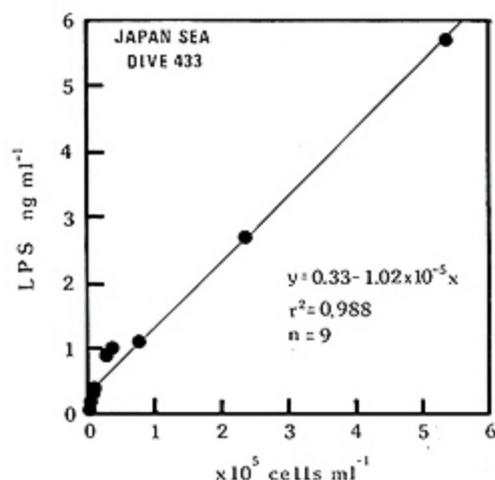


図 2 日本海における全菌数と LPS 濃度との相関関係。直線の傾き (1.02×10^{-5}) は 1 細胞当たりの LPS 量 (ng cell^{-1}) に相当する。

Fig. 2 Correlation between the total bacteria count ($\times 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$) and the LPS concentration (ng ml^{-1}) in the Japan Sea. The slope of 1.02×10^{-5} is responsible for the LPS content per cell (ng cell^{-1})

$$\text{LPS g ml}^{-1} = 0.33 + 1.02 \times 10^{-11} (\text{cell ml})$$
$$r^2 = 0.988, p < 0.01$$

全菌数・LPS 濃度とともに低い値で偏差が大きいが、これは主に以下の 2 つの理由によるものと思われる。すなわち、①全菌数が少ないほど計数精度が落ちる。②細菌細胞外の溶存 LPS の影響が相対的に大きくなる (Evans et al., 1978)。上の式で表される相関にもとづき、1 細胞当たりの LPS 含量は $1.02 \times 10^{-11} \text{ gm l}^{-1}$ と推定された。この値は、以下に挙げるような報告例と比べて中間的な値であり、相関関係の妥当性から見て少なくとも水深 2000m 程度までは、この細胞当たり LPS 含量が摘要できるものと思われる。

LPS (g cell ⁻¹)	Reference
0.265×10 ⁻¹⁴	Maeda et al., 1983
0.278×10 ⁻¹⁴	Watson and Hobbie, 1979
1.00×10 ⁻¹⁴	Ingraham et al., 1983
1.02×10 ⁻¹⁴	This study
4.96×10 ⁻¹⁴	Watson and Hobbie, 1979

謝 辞

支援母船「なつしま」の越智船長ならびに乗組員の方々の御支援に感謝いたします。「しんかい2000」運航チームの方々には、技術的助言・支援を頂きました。感謝いたします。藤倉克則氏（海洋科学技術センター）には、日本海での調査に際して、船上作業を支援して頂きました。ありがとうございました。

参考文献

- Carlucci, A. F. and P. M. Williams 1987. Simulated in situ growth rates of pelagic marine bacteria. *Naturwissenschaften*, 65, 541-542.
- Evans, T. M. J. E. Schillinger and D. G. Stuart 1978. Rapid determination of bacteriological water quality by using *Limulus* lysate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 376-382.
- Hobbie, J. E. and M. M. Fletcher 1988. The aquatic environment. p. 132-162. In: *Microorganisms in Action: Concepts and Applications in Microbial Ecology*, ed. by J. M. Lynch and J. E. Hobbie, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Hobbie, J. E., R. J. Daley and S. Jasper 1977. Use of Nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1225-1228.
- Ingraham, J. L., O. Maaloe and F. C. Neidhardt 1983. *Growth of the Bacterial Cell*, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 435pp.
- Maeda, M. and N. Taga 1979. Chromogenic assay method of lipopolysaccharide (LPS) for evaluating bacterial standing crop in seawater. *J. Appl. Bacteriol.*, 47, 175-182.
- Maeda, M. W. J. Lee and N. Taga 1983. Distribution of lipopolysaccharide, an indicator of bacterial biomass, in subtropical areas of the sea. *Mar. Biol.*, 76, 257-262.
- Mita, N. M. Maeda and H. Tominaga 1988. A new rapid prospecting method for submarine hydrothermal activity by determining lipopolysaccharide as bacterial biomass. *Geochem. J.*, 22, 83-88.
- Morita, R. 1979. Deep-sea microbial energetics. *Sarsia*, 64, 9-12.
- Naganuma, T., A. Otsuki and H. Seki 1989. Abundance and growth rate of bacterioplankton community hydrothermal vent plumes of the North Fiji Basin. *Deep-sea Res.*, 36, 1379-1390.
- Tabor, P. S., K. Ohwada and R. R. Colwell 1981. Filtrable marine bacteria found in the deep sea: distribution, taxonomy, and response to starvation. *Microb. Ecol.*, 7, 67-83.
- Watson, S. W. and J. E. Hobbie 1979. Measurement of bacterial biomass as lipopolysaccharide, p. 82-88. In: *Native Aquatic Bacteria*, ed. by J. W. Costerton and R. R. Colwell, American Society for Testing and Materials, Baltimore.
- Zimmermann, R., R. Iturriaga and J. Becker-birck 1978. Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 36, 926-935.

(原稿受理 1990年4月20日)