

深海生物、底泥からの微生物の分離 および二、三の性状

矢野 豊^{*1} 中山昭彦^{*1}

1990年4月(駿河湾 Dive 469)および1991年11月(相模湾 Dive 581)のしんかい2000の潜航調査において、深海生物および底泥を採取した。これらの試料から、深海微生物(好圧細菌および好冷細菌)の分離を試みた。

殆どの試料(11試料中9)において、現場圧培養で、微生物の増殖がみられたが、いずれの試料からも612気圧では増殖は見られず、高度に耐圧性または好圧性を有する微生物は分離されなかった。

二枚貝消化管試料から純粋分離した菌株(S11およびS16株)は、共に0℃でも増殖がみられ、また至適増殖温度が20℃以下にあったことから、これらの菌株は、好冷細菌と判断した。

すべての試料中に、5℃で増殖する微生物の存在が確認されたので、これらの深海試料は好冷細菌等の低温においても、十分生物機能を有する微生物の分離源として有望であると考えられた。

Isolation of microorganisms from deep-sea bivalves and sediments, and their characteristics

Yutaka YANO^{*2} Akihiko NAKAYAMA^{*2}

Dive #469 and Dive #581 by the "SHINKAI 2000" were carried out at Suruga Bay in April of 1990 to collect deep-sea sediments and at Sagami Bay in November of 1991 to collect deep-sea bivalves, respectively.

Almost all samples (9 out of 11 samples) had microorganisms which could grow under in situ pressures at 5°C, but could not under 612 atm. No extreme barophilic and/or extreme barotolerant microorganisms were in the samples.

Since Strain No. S11 and S16 isolated from the guts of deep-sea bivalves grew at 0°C under 1 atm and has their maximum growth temperatures under 20°C, it is considered that the strains are psychophilic.

From these results, it is concluded that the deep-sea samples like ones used for this study are very important sources for microorganisms having useful bioactive substances which can function well under low temperatures near 0°C.

*1 水産庁・中央水産研究所

*2 National Research Institute of Fisheries Science

1. はじめに

深海は、温度、圧力をはじめとして様々な点において、陸上や浅海とは極めて異なった環境である。このような特殊環境には、その環境に適応した生理系を有する新規な微生物の存在が予想され、それらからの新規有用物質の生産等が期待される。このような観点から、著者らは深海環境から主として好圧微生物、好冷微生物等の分離、培養を試みている。好圧微生物については、深海性ヨコエビ (Yayanos et al., 1979) や深層水 (Jannasch et al., 1982) 等からの分離が報告されており、筆者らも水深6000m前後の深海から採集した深海性ソコダラ類の腸管から、400気圧付近に至適増殖圧を有する偏性好圧細菌を分離している (中山ら, 1990; 中山ら, 1992)。試料採集過程での急激な環境変化に伴うこれら微生物の死滅を考慮すると、好圧細菌などの深海微生物の分離源には、生物の消化管等の微生物濃度の比較的高い試料が適していると考えられる。しかしながら、深海生物、特に二枚貝等の採集は通常の手法をもっては困難である。そこで、今回「しんかい2000」の潜航調査により駿河湾および相模湾において、シロウリガイ等の深海生物の試料を採集し、それらからの好圧細菌および好冷細菌の分離を試みた。

2. 材料と方法

試料の採集

「しんかい2000」の潜航調査により、駿河湾 (Dive 469) 及び相模湾 (Dive 581) において試料の採集を行った。駿河湾での地点は、松崎沖、水深約1900mで、柱状採泥器により底泥を採集した。相模湾での地点は、初島南東沖水深約1200mのシロウリガイを優先種とする高密度生物群集の見られる地点で、生物試料の採集と採泥を行った (採泥地点の様子については写真1および2を参照)。潜水船揚収後直ちに、船上において試料の処理を行った。すなわち、底泥の場合、柱状採泥器から取り出した底泥から、その中心部を無菌的に採取し、試料採集水深に応じた圧力 (現場圧) に保持し冷蔵庫に保存した。これを実験室まで持ち帰り、微生物の分離培養に供した。生物試料 (貝類) の場合、外套膜を除去した軟体部を

滅菌海水で洗浄後、現場圧に保持し、冷蔵して実験室まで持ち帰った。実験室において、軟体部から消化管、または鰓を取り出し、微生物の分離培養に供した。

深海微生物の分離培養

Dive 469の試料の場合、約0.7gの試料をマリン・ブロス (ディフコ) 5 ml に接種し、5℃、204気圧で培養した。2ヵ月後、培養液0.1mlを新たなマリン・ブロス 5 ml に植え継ぎ、これを1気圧、204気圧および612気圧で培養し、増殖の有無を観察した。Dive 581の試料の場合約0.1mlの試料をマリン・ブロス 5 ml に接種し、5℃、136気圧で培養した。1ヵ月後、培養液を新たなマリン・ブロスに植え継ぎ、これを1気圧、136気圧および612気圧で培養し、増殖の有無を観察した。なお、以上の培養は5℃で行った。

菌体の形態観察は、培養試料をホルマリン固定後、アクリジンオレンジで染色し蛍光顕微鏡により行った (Hobbie et al., 1977)。

Dive 581の試料に由来する136気圧培養試料から画線培養法により、純粋分離菌株を得た。このうち2株について、その増殖温度特性を明らかにするため、0、5、10、15および20℃における培養3日目の増殖量 (OD₆₆₀) を測定した。

3. 結果と考察

各試料からの分離培養の結果を表1および2に示した。Dive 469の試料の場合、培養圧力が1気圧および204気圧のとき、全ての試料で微生物の増殖が観察されたが、612気圧では増殖は見られなかった。Dive 581の試料の場合、シロウリガイ鰓以外の全ての試料で1気圧および136気圧で微生物の増殖が観察されたが、612気圧ではどの試料でも増殖はなかった。204気圧で培養した試料中の菌体の形態の一例を写真3に示した。豆状、線状、繊維状等様々な菌体が観察され、水深1000-2000mの環境においても、少なくとも底泥や生物の消化管においては、種々の従属栄養細菌が存在し、増殖できることが示唆された。これら現場圧で増殖した微生物群からは、現在純粋分離菌株を分離できていないため、それらが好圧性であるのか、耐圧性であるのかという点については

表1 駿河湾試料からの微生物分離培養結果

Table 1 Growth of microorganisms under different pressures in samples collected at Suruga Bay.

sample	Growth		
	1atm#1	204atm	612atm
sediment cores	++ #2	+	-
sediment cores	++	+	-
sediment cores	++	+	-
sediment cores	++	+	-

#1 incubation pressure.

#2 ++, grown very well.

+, grown.

-, no growth.

表2 相模湾試料からの分離培養結果

Table 2 Growth of microorganisms under different pressures in samples collected at Sagami Bay.

sample	Growth		
	1atm#1	136atm	612atm
gut of mussel #2	++ #4	+	-
gut of mussel	++	+	-
gut of mussel	++	+	-
gill of clam #3	-	-	-
gill of clam	-	-	-
sediment cores	++	+	-
sediment cores	++	+	-
sediment cores	++	+	-
sediment cores	++	+	-

#1 incubation pressure.

#2 Bathymodiolus-like mussel.

#3 Calyptogena-like clam.

#4 ++, grown very well.

+, grown.

-, no growth.

明らかではない。しかし、いずれの試料でも612気圧では増殖はみられなかったことから、2000m以浅の海洋環境中には、高度に耐圧性あるいは好圧性を有する深海微生物の存在する可能性は低いと考えられた。

Dive 581の試料から、5℃下で旺盛なコロニー形成能を有する菌株30株を純粋分離することができた。これら菌株中の2株についての増殖温度特性を図1に示した。両株とも0℃で増殖し、さら

に至適増殖温度が20℃以下であったことから、この2株は好冷細菌と考えられた。特に、菌株No. S11株は0℃においても活発な増殖を示し、低温における物質生産能に期待がもたれ、現在検討中である。

以上のように、今回「しんかい2000」の潜航調査で採集した2000m以浅の深海試料からは、水深6000m前後の深海性ソコダラの腸管から著者らが分離したような、高度に好圧性あるいは耐圧

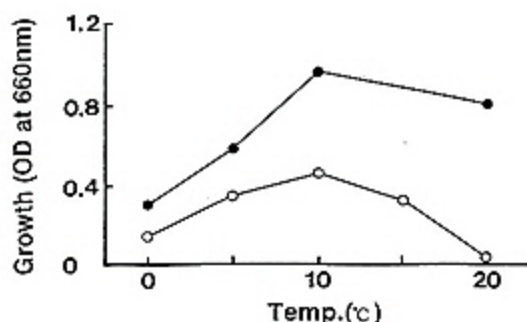


図1 深海性二枚貝消化管から分離した菌株の各温度における増殖

Fig. 1 Growth of two strains isolated from gut of deep-sea clam under 1 atm at various temperatures.

(●—●) strain S11.
(○—○) strain S36.

性を有する微生物を分離培養できなかった。しかし、すべての試料において、5℃で増殖する微生物が存在していたことから、今回実験した水深における深海試料は、好冷細菌のような低温下で有用な特性を示す微生物の分離源として有望であり、今後注目されるであろう。

4. 謝 辞

本研究の調査において、大変お世話になった潜水調査船「しんかい2000」の司令ほか運航チーム、支援母船「なつしま」の船長ほか乗組員の方々に厚くお礼申し上げます。

参考文献

- Hobbie, J. E., Daley, R. J., and Jasper, S., 1977, Use of nucleopore filters for counting by bacteria fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1225-1228.
- Jannasch, H. W., Wirsen, C. O., and Taylor, C. D., 1982, Deep-sea bacteria: Isolation in the absence of decompression. *Science*, 216, 1315-1317.
- 中山昭彦・吉田勝彦・小林正三・田原陽三・内田基晴, 1990, 深海性魚類からの好圧微生物の分離, 平成2年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 205.
- 中山昭彦・矢野 豊・吉田勝彦, 1992, 深海微生

物の研究—V, 深海性魚類腸管からの好圧細菌の純粋分離とその生物性状, 平成4年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 246.

Yayanos, A. A., Diez, A. S., and Boxtel, R. V., 1979, Isolation of a deep-sea barophilic bacterium and some of its growth characteristics. *Science*, 205, 808-810.

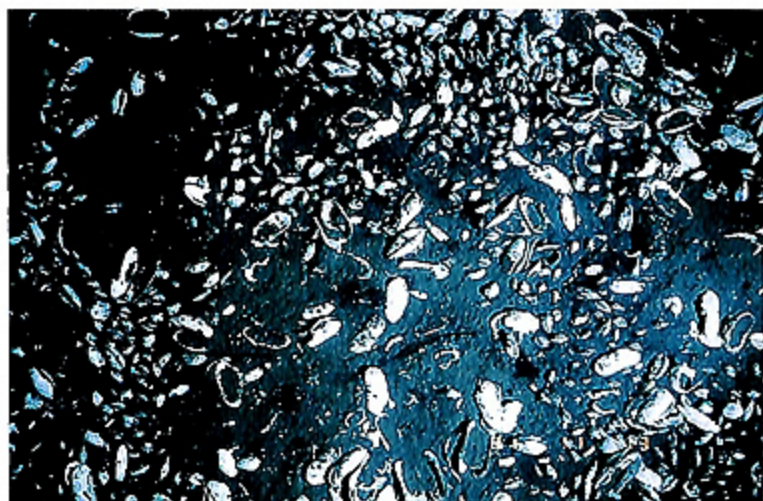


写真1 相模湾採泥地点

Photo 1 The feature of the sediment-sampling site at Sagami Bay.

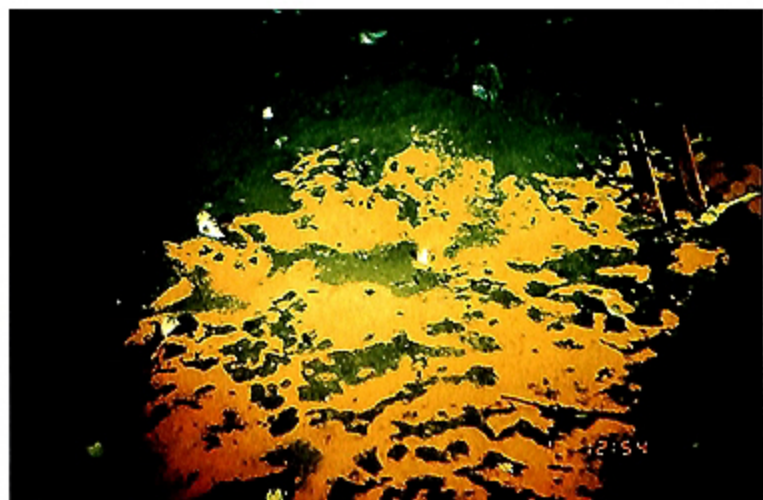


写真2 相模湾採泥地点

Photo 2 The feature of the sediment-sampling site at Sagami Bay.

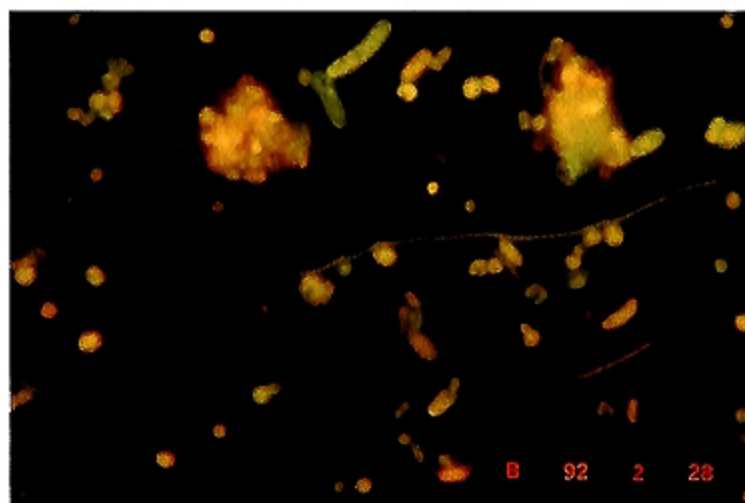


写真3 現場圧で培養した底泥試料中の微生物

Photo 3 Microorganisms in a sediment sample incubated at in situ pressure.