

# 堆積物脂肪酸を用いた深海帯海底微生物相の解析

高杉 秀美\*<sup>1</sup> 長沼 毅\*<sup>1, 2</sup> 金松 敏也\*<sup>2</sup>  
池原 研\*<sup>3</sup> 沖野 郷子\*<sup>4</sup> 藤岡換太郎\*<sup>2</sup>

西フィリピン海盆セントラル・ベーズン・フォールト周辺の水深 5796 m 地点において、遠洋性粘土からなる約 7 m 長の成層した柱状堆積物試料を得た。この柱状堆積物には堆積物深度 3.49~3.52 m に砂粒の固結度の高い層(固結層)があった。得られた堆積物試料のリン脂質有機リン酸濃度・堆積物脂肪酸分析を行い、海底面下の深度増加に伴う微生物相の変化を量(バイオマス)と質(種組成の概略)の両面から検討した。この結果、深度 1.1~1.5 m で微生物バイオマスのピークが見られた。脂肪酸組成を解析したところ、1.1~1.5 m の深度でメタン酸化細菌相の存在が示唆され、特に硫酸還元と共役したメタン酸化(嫌氣的メタン酸化)フロントの存在が推察された。これは、堆積物では典型的に見られる‘深度増加にともなう酸化還元電位の低下’を反映した微生物相(depth-Eh-controlled microflora)といえる。一方、さらに深い(3.49~3.52 m)固結層付近にも硫酸還元的環境の存在することが示唆された。これは古海洋学的イベントに起因する過去の堆積環境を反映した微生物相(event-controlled microflora)といえる。

**キーワード：**堆積物, リン脂質有機リン酸濃度, 堆積物脂肪酸, 微生物相, 固結層

## Microfloral Analysis of An Abyssal Zone Sediment Core Based on Fatty Acids Analysis

Hidemi TAKASUGI\*<sup>6</sup> Takeshi NAGANUMA\*<sup>6, 7</sup>  
Toshiya KANAMATSU\*<sup>7</sup> Ken IKEHARA\*<sup>8</sup>  
Kyoko OKINO\*<sup>9</sup> Kantaro FUJIOKA\*<sup>7</sup>

A 7 m-sediment core was collected at a 5796 m-deep point in the Central Basin Fault area, West Philippine Basin. The core was well-stratified with the pelagic red clay. Characteristically, a consolidated layer of sand-sized (1-2 mm) grains was observed at the depth between 3.49 and 3.52 m. Biomass and species composition (microflora) of the microbial communities in the core was estimated by the phospholipid phosphate and fatty acids analysis. The maximum microbial biomass was found in the 1.1-1.5 m deep layers. Fatty acids composition of the layer suggested the occurrence of coupled methane-oxidizers and sulfate-reducers, which is commonly seen in the sediment having the gradient of Eh-decrease with depth-increase. This microflora may be characterized as ‘depth-Eh-controlled’. Biomarker fatty acids for sulfate-reducers were also detected in the consolidated layer (3.49-3.52 m deep). This layer is thought to be a record of certain paleoceanographic event, and the microflora thus may be characterized as ‘event-controlled’.

**Key words:** Sediment, phospholipid phosphate, Phospholipid fatty acids, microflora, consolidated layer

---

\*1 広島大学大学院生物圏科学研究科  
\*2 海洋科学技術センター  
\*3 地質調査所海洋地質部  
\*4 東京大学海洋研究所  
\*6 School of Biosphere Sciences, Hiroshima University  
\*7 Japan Marine Science and Technology Center  
\*8 Marine Geology Department, Geological Survey of Japan  
\*9 Ocean Research Institute, University of Tokyo

## 1. はじめに

西フィリピン海盆はフィリピン海プレートを構成する背弧海盆の中でも、最も大きく最も深く(平均水深6000m; Honza and Tamaki, 1985)、かつ最も古い海盆である。西フィリピン海盆は、海盆のほぼ中央を北西・南東に走る断層(Central Basin Fault, CBF)によって南北に分けられている。CBFを拡大軸とした西フィリピン海盆の海底拡大は3000万年~2500万年前に活動を停止したと考えられている(Fujioka *et al.*, 1997)。この西フィリピン海盆の形成過程におけるCBFとの因果関係を明らかにすることは、単に一つの背弧海盆の歴史を知るのみならずフィリピン海プレート全体のテクトニクスや背弧海盆というものに対する理解を深める上で極めて重要であると考えられる(沖野, 1998)。

海底堆積物における微生物群集の量(バイオマス)と質(組成)は、微生物活動のエネルギー源や有機物源により、また、物理的・生物的攪乱によっても、大きく変動する(Baird *et al.*, 1985)。逆に言うと微生物群集のバイオマスと組成を調べればその海底環境及び堆積物中の環境を微生物学的に特徴づけられると期待できる。ただし、微生物群集から全ての微生物種を分離・培養する直接法は現状では不可能である(White *et al.*, 1983)。そこで微生物の細胞構成成分を抽出・分析する間接法がとられている。

間接法の一つとして脂肪酸分析を上げることができる。脂肪酸には多くの種類があり、どの脂肪酸をどれくらい持っているかという脂肪酸組成は微生物の種類や群集ごとに特徴的である(Edmund *et al.*, 1985; White *et al.*, 1983)。また、ある種の脂肪酸はある微生物グループに特に多いという相関関係がみられ、ここから脂肪酸が微生物グループの指標(バイオマーカー)に利用されている(Rajendran *et al.*, 1994)。脂肪酸の中でも特にリン脂質脂肪酸の解析からは生細胞の微生物相(微生物群集構造)の情報を得ることができる(White *et al.*, 1979)。また、微生物のバイオマスはリン脂質のリン酸濃度や、リン脂質脂肪酸の量を測定することで見積もることができる(Dobbs and Findlay, 1993)。堆積物脂肪酸のほとんどは微生物特に細菌(バクテリア)由来であるそのため堆積物脂肪酸分析は微生物群集のバイオマスと種組成の概観的な把握には有効である(Baird *et al.*, 1985)

本研究では得られた堆積物を約6 cm 間隔で脂肪酸分析を行い、その結果をもとに深度ごとに堆積物試料間の類似度(近縁度)を解析した。また、海底面下の深度増加に伴う微生物相の変化を質(種組成の概観)と量(バイオマス)の両面から検討した。これによって、堆積物中の深度増加つまり酸化還元電位に伴うと思われる微生物相の変化と、おそらく古海洋学的イベントに起因する過去の堆積環境を反映した微生物相の変化をとらえることができた。個々の脂肪酸バイオマーカーが由来する元の微生物を分離・培養することにより、それら微生物の地球化学的機能や進化系統関係が明らかになるとと思われる。本研究ではそれに至る最初のデータ(プライマリーデータ)を

提示したことになる。

## 2. 材料と方法

### 2.1 サンプルング地点

1998年1月6日から同年1月27日の間、海洋科学技術センター所管の深海調査船「かいれい」のKR98-01航海によりパレスペラ海盆、西フィリピン海盆CBF地域において海底地形調査、地球物理観測、岩石・堆積物の採取、ネットによるプランクトン採取及び採水が行われた。CBF地域における堆積物の採取は全長8mのピストンコアにより行った(金松ほか, 1998)。採取地点はCBF北側の3地点であるが、本研究には(20°19.9'N, 130°15.0'E, 水深5796m)(図1)から採取された堆積物試料P-5を用いた。CBF地域にはいわゆる赤色粘土が広く分布している(金松ほか, 1998)。赤色粘土は微化石をほとんど含まない遠洋性粘土で、北太平洋、南太平洋の炭酸塩補償深度(CCD)以深の水深に広く分布する(Davies and Gorsline, 1976)。フィリピン海におけるCCDは水深4000 m~4300 mとされており(池原ほか, 1998)、本研究で用いたP-5試料にも多く見られた。

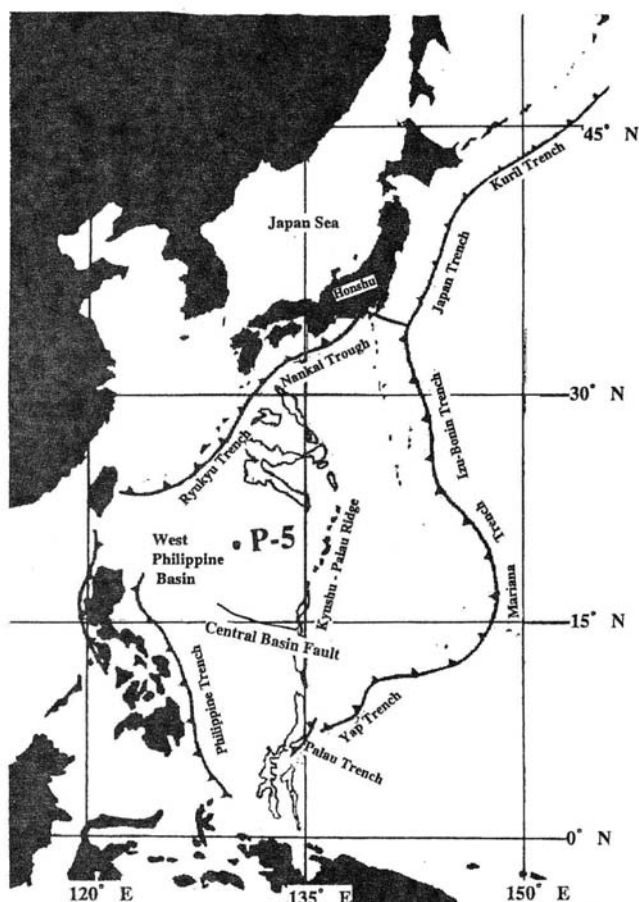


図1 フィリピン海における柱状堆積物(P-5) 採集地点  
Fig. 1 Location of the core sampling site in the Philippine Sea.

## 2.2 堆積物試料の特徴 (地質学的知見)

回収された全長 7.3 m 柱状堆積物 (P-5) は生物攪乱をうけた赤色粘土であったが、コアの上位から 3.49~3.52 m 層に、他の層に比べて粗粒で固結度の高い層が観察された。これにはマンガクラストの薄片と見られるものも含まれていた。今回得られた柱状堆積物試料から CBF 海域における堆積速度は 5~2 mm / 1000 年と推定されており、約 7 m 長の柱状堆積物は約 190 万年にわたる時間断面を表していると考えられる (金松ほか, 1998)。また、柱状堆積物は空間的には鉛直方向の環境勾配の断面を表しており、約 7 m 長の柱状堆積物では酸化的 (好氣的) から還元的 (嫌氣的) 環境に至るまでの地球化学的環境勾配が見られると考えられる。このような鉛直方向の物理化学環境の変化に対応して、そこに棲息する微生物相の鉛直的变化があると考えられる。今回得られた柱状堆積物の深度 539~730 cm 層は非常に乱れていたため脂肪酸分析には用いなかった。本研究では、海底面下約 5.4 m の柱状堆積物における微生物相の変化を、6 cm おきという従来にない高解像度で、ほぼ連続的に調査した。

### 2.3.1 脂肪酸分析

採取した柱状堆積物は揚収後、船上にて 1 m 間隔で半分に分割 (半裁) した。半裁試料の一方 (archival half) は堆積層の記載後保存用に冷蔵保管された。もう一方の半裁試料 (working half) は地質の構造や物性分布を計測するための軟 X 線写真用、堆積物中の間隙率や含水率測定用のサンプルが採取され、その後に脂肪酸分析用の試料を約 6 cm 間隔で分取し、-40°C で冷凍保存した。冷凍試料は広島大学の研究室で凍結乾燥され、脂肪酸分析に供された。

凍結乾燥した堆積物に、リン酸緩衝液 ( $K_2HPO_4$ ; 8.7 g l<sup>-1</sup>)、クロロホルム、メタノール (2:3:6 v:v:v) を加えて脂質を抽出する。乾燥堆積物 1 g に対してリン酸バッファー 1・で抽出した脂質はケイ酸カラムクロマトグラフィーで中性脂質、糖脂質、リン脂質、をそれぞれクロロホルム、アセトン、メタノールに溶出させ分画する。メタノールに溶出したリン脂質はメチルエステル化し (White *et al.* 1979) 薄層クロマトグラフィー (TLC) で精製する (Rajendran *et al.* 1992)。各堆積物試料の脂肪酸メチルエステルの組成をガスクロマトグラフ装置 (Shimadzu GC-14A, カラム: 全長 50 m, 内径 0.22 mm, fused silica, WCOT, CP-Sil 88 CB) と GC / MS (Finnigan MAT GCQ GC / MS, カラム: 全長 30 m, 内径 0.22 mm, Rtx-5MS) で分析した。

得られた脂肪酸メチルエステル組成から脂肪酸組成を読みとった。この脂肪酸組成比に基づいて堆積物試料間の類似度 (近縁度) を統計解析ソフトウェア SPSS Base 9.0 (SPSS Inc.) によりクラスター解析した。解析結果はユークリッド距離を用いてグループ間平均連結法でデンドログラムで図示した (Sasser, 1990)。デンドログラムでは、類似度の高いものほどユークリッド距離が短く、脂肪酸

組成に基づく堆積物試料間の関係の近縁が直感的に把握できる。

### 2.3.2 リン脂質有機リン酸 (LPO<sub>4</sub>) 濃度の測定

リン脂質有機リン酸 (LPO<sub>4</sub>) 濃度を測定するために堆積物から抽出した脂質をクロロホルム 10 ml に溶かした。そのうち 1 ml をアンプル管に分取し窒素ガス下で乾固し過硫酸カリウム 90  $\mu$ l ( $K_2S_2O_8$  5 g を 0.36 N  $H_2SO_4$  100 ml に加える) を加えてアンプル管を密閉し、95°C, 48 時間でインキュベートした。その後、密閉アンプル管を開け

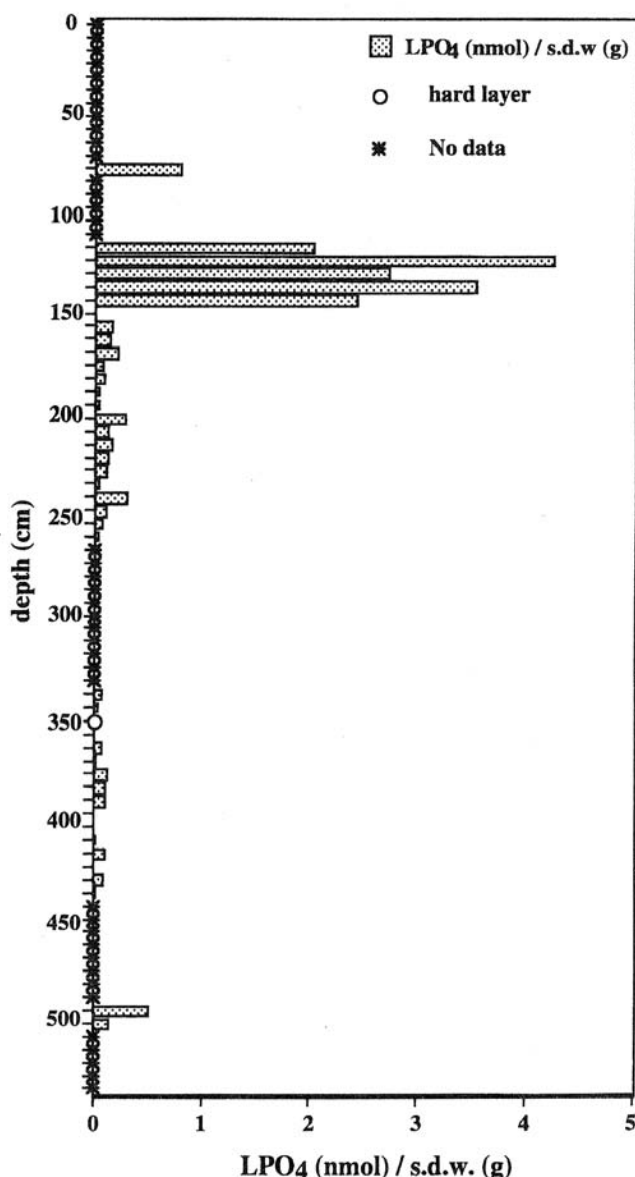


図2 西フィリピン海盆セントラル・ベーズン・フォールト周辺から採取された堆積物におけるリン脂質脂肪酸リン酸 (LPO<sub>4</sub>) 濃度の深度プロファイル

Fig. 2 Vertical profile of the phospholipid phosphate (LPO<sub>4</sub>) contents in the sediment core sampled from the Central Basin Fault area, West Philippine Basin.

表1-1 西フィリピン海盆セントラル・ベーズン・フォールト周辺から採取された堆積物におけるリン脂質脂肪酸リン酸 (LPO<sub>4</sub>) 濃度と堆積物脂肪酸組成比 (mol %) の深度プロファイル  
 Table 1-1 Vertical profile of the phospholipid phosphate (LPO<sub>4</sub>) contents and the phospholipid fatty acid compositions (mol %) in the sediment core sampled from the Central Basin Fault area, West Philippine Basin.

| d.s.w.; dry sediment weight -; No data |                                       |                |               |               |         |          |       |       |         |        |         |        |                       |                       |       |       |               |       |
|----------------------------------------|---------------------------------------|----------------|---------------|---------------|---------|----------|-------|-------|---------|--------|---------|--------|-----------------------|-----------------------|-------|-------|---------------|-------|
| depth<br>(cm)                          | LPO <sub>4</sub> (nmol)/<br>d.s.w.(g) | sample<br>name | 12:0/<br>11:1 | 14:0/<br>13:1 | iso15:0 | ante15:0 | 15:0  | 15:1  | iso16:0 | 16:0   | iso18:0 | 18:0   | 18:1 $\omega$<br>7cis | 20:1 $\omega$<br>9cis | 21:0  | 23:0  | 20:5/<br>24:0 | 22:6  |
| 7                                      | -                                     | S-1-1          | 1.306         | 4.772         | 0.988   | 0.435    | 0     | 1.122 | 4.27    | 5.492  | 2.311   | 2.914  | 1.273                 | 0                     | 3.031 | 7.317 | 0.904         | 0.62  |
| 13                                     | -                                     | S-1-2          | 3.164         | 4.412         | 1.974   | 0.784    | 0     | 0.542 | 0.997   | 2.937  | 1.606   | 1.568  | 0.716                 | 0.387                 | 0     | 6.599 | 0.977         | 1.074 |
| 20                                     | -                                     | S-1-3          | 0.929         | 3.546         | 1.701   | 0.245    | 0.992 | 0     | 0.389   | 4.569  | 1.569   | 1.858  | 0.364                 | 0.119                 | 0     | 4.751 | 0.402         | 0.54  |
| 26                                     | -                                     | S-1-4          | 0.93          | 4.007         | 2.043   | 0.442    | 1.317 | 0.194 | 0.527   | 4.414  | 1.481   | 1.63   | 0.552                 | 0.343                 | 0     | 5.354 | 9.609         | 1.745 |
| 33                                     | -                                     | S-1-5          | 1.049         | 19.828        | 2.046   | 0.501    | 0.625 | 0     | 0.682   | 2.444  | 0       | 0.749  | 0.31                  | 0                     | 0     | 1.602 | 0             | 2.867 |
| 39                                     | -                                     | S-1-6          | 0.391         | 27.763        | 0.763   | 0        | 0.772 | 0.154 | 0.262   | 1.449  | 0.609   | 0.492  | 0.253                 | 0.47                  | 0     | 1.764 | 9.251         | 0     |
| 46                                     | -                                     | S-1-7          | 0.413         | 37.629        | 0.544   | 0.108    | 0.759 | 0.143 | 0       | 1.794  | 0.283   | 0.942  | 0.634                 | 0.413                 | 0     | 1.365 | 0             | 0.456 |
| 53                                     | -                                     | S-2-1          | -             | -             | -       | -        | -     | -     | -       | -      | -       | -      | -                     | -                     | -     | -     | -             | -     |
| 59                                     | -                                     | S-2-2          | -             | -             | -       | -        | -     | -     | -       | -      | -       | -      | -                     | -                     | -     | -     | -             | -     |
| 66                                     | -                                     | S-2-3          | 2.407         | 14.201        | 1.515   | 0        | 0     | 0.595 | 0       | 12.253 | 0       | 1.839  | 0.595                 | 0                     | 7.493 | 1.109 | 0             | 1.461 |
| 73                                     | -                                     | S-2-4          | 0.726         | 8.938         | 1.572   | 0.643    | 2.542 | 0.104 | 0.311   | 0.208  | 0       | 1.65   | 0.488                 | 0.55                  | 1.504 | 1.733 | 0.913         | 1.167 |
| 79                                     | 0.776                                 | S-2-5          | 0.455         | 1.866         | 2.097   | 0.821    | 3.783 | 0     | 0.37    | 1.091  | 0       | 1.586  | 0.936                 | 0.595                 | 1.952 | 1.491 | 1.781         | 0.801 |
| 86                                     | -                                     | S-2-6          | 0.503         | 76.206        | 1.042   | 0.217    | 0.593 | 0     | 0       | 0.068  | 0.879   | 1.096  | 0.19                  | 0.086                 | 0.19  | 0.466 | 0             | 0.267 |
| 93                                     | -                                     | S-2-7          | 0.433         | 74.444        | 1.151   | 0.223    | 0.786 | 0     | 0.416   | 0.164  | 0       | 0.592  | 0.164                 | 0.088                 | 0.084 | 0.466 | 0             | 0.168 |
| 99                                     | -                                     | S-2-8          | 0.702         | 90.428        | 2.489   | 0        | 1.34  | 0     | 0       | 0      | 1.085   | 2.01   | 0                     | 0                     | 0     | 0.574 | 0             | 0     |
| 106                                    | -                                     | S-2-9          | 0.37          | 79.17         | 1.051   | 0        | 1.051 | 0     | 0.326   | 0.395  | 0       | 0.839  | 0.375                 | 0.217                 | 0.084 | 0.335 | 0             | 0.252 |
| 113                                    | -                                     | S-2-10         | -             | -             | -       | -        | -     | -     | -       | -      | -       | -      | -                     | -                     | -     | -     | -             | -     |
| 119                                    | 2.004                                 | S-2-11         | 0.459         | 75.129        | 1.586   | 0        | 0.767 | 0     | 0.186   | 0.056  | 0.256   | 0.776  | 0.329                 | 0.069                 | 0     | 0.386 | 0             | 0.186 |
| 126                                    | 4.246                                 | S-2-12         | 0.323         | 59.956        | 1.146   | 0.191    | 0.662 | 0     | 0.183   | 0.055  | 1.718   | 7.965  | 5.923                 | 1.013                 | 0     | 1.22  | 0             | 0     |
| 133                                    | 2.708                                 | S-2-13         | 0.218         | 33.049        | 0.754   | 1.091    | 0.427 | 0.582 | 0.136   | 3.581  | 0       | 19.169 | 9.889                 | 1.273                 | 0     | 1.609 | 0.845         | 2.818 |
| 139                                    | 3.520                                 | S-2-14         | 0.438         | 30.863        | 0.607   | 1.38     | 0.771 | 0     | 0.356   | 2.309  | 0.682   | 8.574  | 7.81                  | 1.877                 | 0     | 1.553 | 2.084         | 0     |
| 146                                    | 2.410                                 | S-2-15         | 0.27          | 34.8          | 0.43    | 0.79     | 0.664 | 0     | 0.221   | 3.351  | 0.469   | 11.256 | 4.942                 | 1.094                 | 0     | 1.776 | 0             | 0     |
| 153                                    | 0                                     | S-3-1          | 0.202         | 55.464        | 1.082   | 0.253    | 0.754 | 0.072 | 0       | 2.176  | 0.274   | 8.693  | 1.301                 | 1.04                  | 3.002 | 1.979 | 0.497         | 0     |
| 159                                    | 0.132                                 | S-3-2          | 0.195         | 68.897        | 1.002   | 0.277    | 0.872 | 0.077 | 0       | 1.55   | 1.09    | 1.432  | 0.177                 | 0                     | 3.743 | 1.143 | 0             | 0.183 |
| 166                                    | 0.117                                 | S-3-3          | 0.377         | 64.028        | 1.113   | 0.105    | 0.659 | 0.115 | 0.129   | 1.38   | 2.651   | 2.192  | 0.234                 | 0.086                 | 4.036 | 1.548 | 0.139         | 0.334 |
| 172                                    | 0.186                                 | S-3-4          | 0.6           | 55.921        | 1.293   | 0.219    | 0.792 | 0.088 | 0       | 1.423  | 3.247   | 2.67   | 0.396                 | 0.081                 | 4.482 | 2.27  | 0.208         | 0.627 |
| 179                                    | 0.053                                 | S-3-5          | 0.436         | 63.855        | 0.58    | 0.072    | 0.877 | 0.173 | 0.182   | 1.836  | 2.933   | 3.034  | 0.949                 | 0.628                 | 3.106 | 0.618 | 0.24          | 0.973 |
| 186                                    | 0.063                                 | S-3-6          | 0.338         | 84.468        | 0.689   | 0.234    | 0.689 | 0     | 0       | 1.495  | 1.45    | 1.482  | 0.299                 | 0.137                 | 3.017 | 0.41  | 0             | 0.117 |
| 192                                    | 0.038                                 | S-3-7          | 0.302         | 81.669        | 0.687   | 0.134    | 0.687 | 0.179 | 0       | 1.464  | 1.403   | 1.649  | 0.168                 | 0                     | 3.297 | 0.386 | 0.19          | 0.179 |
| 199                                    | 0.032                                 | S-3-8          | 0.364         | 89.86         | 0.496   | 0        | 0.837 | 0     | 0       | 0.883  | 0.248   | 0.488  | 0                     | 0                     | 0     | 0     | 0             | 0.426 |
| 205                                    | 0.269                                 | S-3-9          | 0.351         | 91.352        | 0.494   | 0.258    | 0.773 | 0     | 0       | 1.081  | 0       | 0.43   | 0                     | 0.351                 | 0     | 0     | 0             | 0.215 |
| 212                                    | 0.096                                 | S-3-10         | 0.349         | 81.82         | 0.366   | 0.195    | 0.991 | 0     | 0       | 1.235  | 0.195   | 1.552  | 0.333                 | 0.236                 | 2.851 | 1.893 | 0.252         | 1.925 |
| 219                                    | 0.131                                 | S-3-11         | 0.305         | 85.344        | 0.286   | 0        | 0.884 | 0     | 0       | 0.974  | 0.331   | 1.039  | 0                     | 0.227                 | 2.891 | 0.448 | 0             | 0.734 |
| 225                                    | 0.111                                 | S-3-12         | 0.446         | 85.253        | 0.815   | 0.543    | 1.281 | 0     | 0       | 1.387  | 0.262   | 0.243  | 0                     | 0                     | 0.98  | 0     | 0             | 0.495 |
| 232                                    | 0.080                                 | S-3-13         | 0.314         | 82.763        | 0.503   | 0        | 1.03  | 0     | 0       | 1.116  | 0.118   | 0.66   | 0                     | 0.857                 | 4.417 | 0     | 0.11          | 0.354 |
| 238                                    | 0.036                                 | S-3-14         | 0.275         | 64.995        | 0.739   | 0.745    | 1.112 | 0     | 0       | 1.179  | 0.916   | 0.611  | 0                     | 0                     | 3.433 | 0.208 | 0             | 0     |
| 245                                    | 0.289                                 | S-3-15         | 0.247         | 68.004        | 0.949   | 0        | 0.854 | 0     | 0       | 1.373  | 0.401   | 0.778  | 0                     | 0                     | 3.199 | 0     | 0             | 0.63  |
| 251                                    | 0.092                                 | S-4-1          | 0.2           | 13.734        | 0.593   | 0.091    | 0.301 | 0.016 | 0       | 0.609  | 0.445   | 0.32   | 0.4                   | 0                     | 5.93  | 0     | 2.894         | 0     |
| 258                                    | 0.052                                 | S-4-2          | 0.228         | 60.895        | 1.258   | 0        | 0.632 | 0.106 | 0       | 1.38   | 1.784   | 1.577  | 0.17                  | 0                     | 2.431 | 0.276 | 0             | 0     |
| 264                                    | 0.027                                 | S-4-3          | 0.228         | 41.549        | 1       | 0        | 0.784 | 0.068 | 0       | 1.519  | 0.243   | 0.175  | 0.163                 | 0.323                 | 3.26  | 0.704 | 0             | 0     |
| 271                                    | -                                     | S-4-4          | 7.002         | 0             | 3.79    | 1.494    | 0     | 0     | 2.989   | 1.886  | 1.407   | 0.935  | 0                     | 0.356                 | 1.895 | 0.341 | 0             | 0.752 |

表1-2 西フィリピン海盆セントラル・ベーズン・フォールト周辺から採取された堆積物におけるリン脂質脂肪酸リン酸 (LPO<sub>4</sub>) 濃度と堆積物脂肪酸組成比 (mol %) の深度プロファイル  
 Table 1-2 Vertical profile of the phospholipid phosphate (LPO<sub>4</sub>) contents and the phospholipid fatty acid compositions (mol %) in the sediment core sampled from the Central Basin Fault area, West Philippine Basin.

| d.s.w.; dry sediment weight -; No data h; hard layer |                                       |                |               |               |         |          |       |       |         |        |         |       |                |                |        |        |               |       |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------------|---------------|---------------|---------|----------|-------|-------|---------|--------|---------|-------|----------------|----------------|--------|--------|---------------|-------|
| depth<br>(cm)                                        | LPO <sub>4</sub> (nmol)/<br>d.s.w.(g) | sample<br>name | 12:0/<br>11:1 | 14:0/<br>13:1 | iso15:0 | ante15:0 | 15:0  | 15:1  | iso16:0 | 16:0   | iso18:0 | 18:0  | 18:1 ω<br>7cis | 20:1 ω<br>9cis | 21:0   | 23:0   | 20:5/<br>24:0 | 22:6  |
| 277                                                  | -                                     | S-4-5          | 22.07         | 8.456         | 0       | 2.041    | 2.22  | 0     | 0       | 4.183  | 0       | 1.402 | 0              | 0              | 0      | 0      | 0             | 1.592 |
| 284                                                  | -                                     | S-4-6          | 10.577        | 15.966        | 0       | 4.339    | 2.105 | 0     | 6.027   | 4.215  | 0       | 1.104 | 0              | 0              | 0.61   | 0.239  | 1.322         | 0.66  |
| 290                                                  | -                                     | S-4-7          | 19.621        | 11.45         | 1.769   | 2.276    | 5.906 | 0     | 0       | 12.712 | 0       | 2.162 | 0              | 0              | 0      | 1.945  | 0             | 0     |
| 296                                                  | -                                     | S-4-8          | 14.285        | 28.14         | 0.581   | 3.116    | 0     | 0     | 0.86    | 3.238  | 0       | 1.11  | 0              | 0              | 1.273  | 0.663  | 1.105         | 0     |
| 303                                                  | -                                     | S-4-9          | 7.33          | 1.2           | 5.756   | 0        | 0     | 0     | 0       | 2.85   | 0.374   | 0.781 | 0              | 0              | 0      | 0.404  | 0.352         | 1.512 |
| 309                                                  | -                                     | S-4-10         | 0.507         | 39.569        | 1.352   | 0.483    | 0.695 | 0     | 0       | 0.681  | 0.166   | 0.267 | 0.207          | 0              | 19.51  | 0.676  | 0             | 0.943 |
| 316                                                  | -                                     | S-4-11         | 0             | 80.941        | 2.985   | 1.23     | 1.51  | 0     | 0.493   | 1.718  | 0.42    | 0.68  | 0.254          | 0.119          | 0      | 0.42   | 0             | 1.858 |
| 322                                                  | -                                     | S-4-12         | 0             | 73.307        | 2.478   | 1.342    | 2.557 | 0     | 1.206   | 1.644  | 0.246   | 0.399 | 0              | 0.075          | 0      | 0.653  | 0             | 1.131 |
| 329                                                  | -                                     | S-4-13         | 0             | 79.325        | 2.677   | 1.026    | 1.647 | 0     | 0.464   | 1.419  | 0.263   | 0.58  | 0              | 0.254          | 0      | 0.451  | 0.165         | 0.732 |
| 335                                                  | -                                     | S-4-14         | 0.618         | 75.363        | 3.191   | 1.608    | 3.123 | 0.526 | 1.212   | 2.443  | 0.272   | 0.421 | 0              | 0              | 0      | 0.21   | 0             | 0.458 |
| 342                                                  | 0.059                                 | S-5-1          | 2.498         | 5.871         | 4.225   | 0        | 2.866 | 5.129 | 2.546   | 2.366  | 0       | 2.631 | 0              | 0.863          | 7.352  | 0.22   | 0             | 0.283 |
| 348                                                  | 0.035                                 | S-5-2          | 1.799         | 16.725        | 2.143   | 0        | 1.405 | 1.524 | 4.006   | 1.427  | 0       | 2.009 | 1.109          | 0              | 14.959 | 0.646  | 0.118         | 1.142 |
| h354                                                 | 0.004                                 | hS-5-3         | 1.954         | 8.765         | 2.189   | 0.763    | 1.243 | 1.265 | 2.208   | 0.721  | 0.962   | 1.111 | 0.995          | 0              | 4.845  | 0.953  | 1.983         | 1.609 |
| 361                                                  | 0                                     | S-5-4          | 1.184         | 3.628         | 2.61    | 0.999    | 2.118 | 5.235 | 2.652   | 1.44   | 1.171   | 1.375 | 0              | 0.432          | 8.003  | 0.576  | 0.409         | 1.054 |
| 368                                                  | 0.049                                 | S-5-5          | 1.066         | 10.635        | 7.203   | 4.151    | 5.058 | 6.104 | 8.136   | 2.632  | 0       | 0.866 | 0              | 0.36           | 9.376  | 0.233  | 0.307         | 1.006 |
| 374                                                  | 0.004                                 | S-5-6          | 0.173         | 54.47         | 1.596   | 0        | 1.106 | 0     | 0.424   | 0      | 2.892   | 0.58  | 0              | 0              | 17.665 | 0.394  | 0             | 1.697 |
| 380                                                  | 0.105                                 | S-5-7          | 0.181         | 65.698        | 1.612   | 0        | 1.564 | 0.133 | 0.42    | 1.82   | 0.197   | 0.484 | 0.213          | 0              | 14.937 | 0.319  | 0.213         | 0.58  |
| 387                                                  | 0.078                                 | S-5-8          | 0             | 46.743        | 0.83    | 0.41     | 1.187 | 0     | 0.513   | 1.557  | 0.267   | 0.777 | 0.292          | 0.103          | 0.171  | 0.895  | 1.964         | 2.15  |
| 394                                                  | 0.092                                 | S-5-9          | 0             | 51.179        | 1.827   | 0        | 0.993 | 0.32  | 0.783   | 1.262  | 0       | 0.611 | 0.291          | 0.18           | 0.205  | 0.42   | 0.84          | 0.425 |
| 400                                                  | 0                                     | S-5-10         | 0             | 53.202        | 2.135   | 0        | 1.163 | 0.168 | 0.687   | 0      | 0       | 0.989 | 0.254          | 0.271          | 0.166  | 0.14   | 0.174         | 0.336 |
| 406                                                  | 0                                     | S-5-11         | 0.405         | 55.589        | 1.76    | 0        | 1.265 | 0.1   | 0.64    | 3.816  | 0.31    | 0.575 | 0.19           | 0              | 14.589 | 0.63   | 0             | 0.58  |
| 413                                                  | 0.009                                 | S-5-12         | 0             | 47.046        | 0.935   | 0.682    | 1.25  | 0.288 | 0.887   | 0      | 0.261   | 0.517 | 0.189          | 0.112          | 0.163  | 0.434  | 0.298         | 0.887 |
| 420                                                  | 0.092                                 | S-5-13         | 0.243         | 69.031        | 2.988   | 0        | 0.915 | 0     | 0.286   | 2.688  | 0       | 0.772 | 0              | 0              | 19.031 | 0      | 0             | 0     |
| 426                                                  | 0                                     | S-5-14         | 0             | 51.301        | 3.074   | 0        | 0.782 | 0     | 0       | 0      | 0       | 1.019 | 0              | 0              | 31.927 | 0.91   | 0             | 0.964 |
| 432                                                  | 0.071                                 | S-5-15         | 0.136         | 80.47         | 1.074   | 0        | 0.64  | 0     | 0       | 0      | 0       | 0.627 | 0              | 0              | 14.085 | 0.388  | 0             | 0.239 |
| 439                                                  | 0.024                                 | S-5-16         | 0             | 53.772        | 3.712   | 0        | 0     | 0     | 0       | 0      | 0       | 1.892 | 0              | 0              | 33.578 | 0.993  | 0             | 2.648 |
| 446                                                  | -                                     | S-6-1          | 0.506         | 45.504        | 0.933   | 0.265    | 0.753 | 0.205 | 0.554   | 2.391  | 0.711   | 1.006 | 0.933          | 0.241          | 0.488  | 3.18   | 0.554         | 0.608 |
| 452                                                  | -                                     | S-6-2          | 0.109         | 10.18         | 0       | 0.207    | 1.234 | 0     | 0.196   | 3.245  | 0       | 0.371 | 0.39           | 0.674          | 1.51   | 1.522  | 0             | 0     |
| 459                                                  | -                                     | S-6-3          | 0.755         | 47.599        | 0.698   | 0.177    | 1.861 | 0.09  | 0.473   | 4.742  | 0.485   | 2.707 | 3.488          | 0.457          | 0      | 0.891  | 0.096         | 1.55  |
| 466                                                  | -                                     | S-6-4          | 0.184         | 37.681        | 0.866   | 0.579    | 1.596 | 0.415 | 0.227   | 3.776  | 1.226   | 1.068 | 0.35           | 0.391          | 0.211  | 1.609  | 0.544         | 0.37  |
| 472                                                  | -                                     | S-6-5          | -             | -             | -       | -        | -     | -     | -       | -      | -       | -     | -              | -              | -      | -      | -             | -     |
| 479                                                  | -                                     | S-6-6          | 0.346         | 3.264         | 0.365   | 0.242    | 0.71  | 0     | 0.397   | 1.216  | 0       | 1.422 | 1.613          | 0.461          | 1.974  | 3.674  | 0             | 3.702 |
| 486                                                  | -                                     | S-6-7          | 0.407         | 3.114         | 0.398   | 0.139    | 0.854 | 0.121 | 0       | 1.563  | 0.308   | 1.738 | 2.143          | 0              | 0.38   | 2.179  | 1.615         | 2.125 |
| 492                                                  | -                                     | S-6-8          | 0             | 12.654        | 0.61    | 1.073    | 1.146 | 0.771 | 0.691   | 1.532  | 1.659   | 1.949 | 6.425          | 0.568          | 2.995  | 1.98   | 0.82          | 2.88  |
| 499                                                  | 0.486                                 | S-6-9          | 0.256         | 11.552        | 0.778   | 0.173    | 0.386 | 0.207 | 0.352   | 0.541  | 1.277   | 0.385 | 6.11           | 0.412          | 2.427  | 1.804  | 0.515         | 4.9   |
| 506                                                  | 0.118                                 | S-6-10         | 0.252         | 29.519        | 0.885   | 0        | 0     | 0.029 | 0.178   | 0.308  | 0.396   | 0.378 | 0.176          | 0.645          | 0.729  | 15.762 | 0             | 5.815 |
| 512                                                  | -                                     | S-6-11         | 0.294         | 26.099        | 0.552   | 0.133    | 0.316 | 0.029 | 0.157   | 0.903  | 0.601   | 0.566 | 0.124          | 0              | 0.625  | 1.459  | 0             | 4.645 |
| 519                                                  | -                                     | S-6-12         | 0.582         | 45.694        | 1.541   | 0.372    | 0.669 | 0     | 0       | 0.563  | 0.315   | 0.642 | 3.712          | 0              | 0.216  | 2.191  | 0             | 1.125 |
| 526                                                  | -                                     | S-6-13         | 0.541         | 49.432        | 1.21    | 0.32     | 0.659 | 0     | 0.323   | 1.979  | 0       | 0.825 | 3.083          | 0.197          | 0      | 1.264  | 0             | 1.399 |
| 532                                                  | -                                     | S-6-14         | 0.464         | 59.877        | 1.446   | 0.266    | 0.967 | 0     | 0.289   | 2.479  | 0.085   | 1.256 | 2.176          | 0.38           | 2.255  | 1.192  | 0             | 0.935 |
| 539                                                  | -                                     | S-6-15         | 0.32          | 23.914        | 0.735   | 0.2      | 0.385 | 0     | 0.189   | 1.036  | 0.093   | 0.428 | 1.44           | 0.328          | 1.266  | 6.634  | 2.161         | 0     |

て2.5%モリブデン酸アンモニウム20  $\mu$ l (1.25 g (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub> Mo<sub>7</sub> O<sub>24</sub> · H<sub>2</sub>Oを5.72 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 ml に加える)を加えて10分間放置する。その後マラカイトグリーンポリビニルアルコール90  $\mu$ l (0.111%ポリビニル溶液300 ml に0.333 g C<sub>48</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> · 2C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>を溶かす)を加えて30分放置した後、マイクロプレートリーダー (Molecular Devices, Inc.) を使って吸光波長(A<sub>610</sub>)で吸光値を測定し抽出脂質中のLPO<sub>4</sub>濃度値を得た (Carter *et al.*, 1982; Findlay *et al.*, 1989)。今回柱状堆積物から得られた堆積物試料のうち深度73~79, 113~264, 342~439, 492~506 cmを分析した。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 堆積物中のリン脂質有機リン酸(LPO<sub>4</sub>)の測定

堆積物試料 P-5中のリン脂質有機リン酸(LPO<sub>4</sub>)濃度を測定したところ、LPO<sub>4</sub>濃度は4.24~0.0042 nmolの範囲内で変動していた (ただし、深度146~153, 354~361, 394~406, 420~426 cmでは検出限界以下)。最低値 0.0042 nmolは固結層(深度349~352 cm)において見られた。また、最大値 (2~4 nmol) は深度113~146 cmで見られた (図 2)。一般にLPO<sub>4</sub>濃度は微生物の量(バイオマス)の指標とされている (Findlay *et al.*, 1989)。P-5試料中できわだって高いLPO<sub>4</sub>濃度を示した層(深度113~146 cm)の地質年代は76~84万年前(この時代の堆積速度を深度113 cmでは3.2 mm/Kyr, 深度146では4.6 mm/Kyrとして計算した; 金松ほか, 1998)で、この層にはブリュネン松山磁極期の境界(B/M)を含んでいた。B/Mの時代は氷期(酸素同位体ステージ20)の直後である。酸素同位体比曲線から推測されるこの時代の気候は氷期-間氷期(Martinson *et al.*, 1987; 増田, 1989; Berger *et al.*, 1994)に当たる。氷河期・間氷期という地球環境変動が古海洋循環の強度や流路の変動をおこし、さらには海底堆積物の相と有機物量の変動をもたらしたことが微生物LPO<sub>4</sub>濃度の変動に反映されているのかもしれない。

#### 3.2 脂肪酸分析

##### 3.2.1 脂肪酸組成比(リン脂質脂肪酸; PLFA)

実験の結果得られた堆積物脂肪酸組成を表 1 に示す。表に示した脂肪酸は同定できたもののうち特に特徴的なもののみを取り上げている。堆積物試料全般では、全リン脂質脂肪酸組成に占める 14:0 あるいは 13:1 (二者の分離が不明瞭) の割合の高いことが特徴的であった (最高値 91.35%, 深度 205 cm)。一般に微生物は炭素数偶数の飽和脂肪酸を多く含み、炭素数奇数の脂肪酸は卓越しないので、この場合は 14:0 が優占的であったと思われる。LPO<sub>4</sub> 濃度と 14:0 組成比の間に有意な相関は得られなかったが(r=0.109; n=78), 14:0 を多く含む微生物が P-5 堆積物微生物相のバイオマスに大きく貢献していると考えられる。脂肪酸 14:0 は 16:0, 18:0 などと共に、メタン湧水や高密度生物群集などが見られない 普通の 海底堆積物中に多く見られる脂肪酸である (Naganuma *et al.*, 1996; Naganuma *et al.*, 1999)。16:0 の脂肪酸組成比は深度59~

66 cm (12.253%), 284~290 cm (12.712%) にピークがあり、その他の層では 6 %未満であった。16:0 はバクテリアに多く含まれる脂肪酸であり、深海底堆積物の脂肪酸分析によるバイオマス推測の試みもあるが (Baird *et al.*, 1985; Edlund *et al.*, 1985), 今回の結果ではLPO<sub>4</sub>濃度と有意な相関は得られなかった (r=0.183)。18:0 の脂肪酸組成比は深度 126~133 cm で最も高く (19.17%), また深度 119~153 cm にかけて 7 %以上のピークが見られた。この結果はLPO<sub>4</sub>濃度と統計的に有意な正の相関が得られた (r=0.687; n=78, P<0.01, ただし、LPO<sub>4</sub>濃度のデータが連続して得られた深度 264 cm までの結果)。この深度においては 18:0 を高い割合でもつ微生物がバイオマスの増減に関与していると考えられる。また、21:0, 23:0 の脂肪酸組成比が高い値を示した層が見られた (21:0; 深度432~439 cmで33.6%, 23:0; 深度499~506 cmで15.8%)。一般に微生物は炭素数 20 以下の脂肪酸を含有していると考えられている。深海堆積物から分離される好圧、好冷菌では飽和脂肪酸に対する不飽和脂肪酸の比は増加傾向にあり (De Long *et al.*, 1985; De Long *et al.*, 1986), 20:5 (EPA)や22:6(DHA)を含むものも見られる (Kato, 1998)。そのためこのように炭素数20以上の飽和脂肪酸の組成比が高い値を示すのは、堆積物環境中の低温-高圧条件を反映するものとして大変興味深い。

##### 3.2.2 バイオマーカー脂肪酸 (PLFA)

LPO<sub>4</sub>濃度の測定から、深度113~146 cmで微生物バイオマスのピークがあることが示された。この深度における脂肪酸組成比とLPO<sub>4</sub>濃度との相関を調べたところ、以下の脂肪酸において統計的に有意な正の相関が得られた (ただし、LPO<sub>4</sub>濃度のデータが連続して得られた深度 264 cmまでの結果)。

18:1 $\omega$ 7cis\*            r=0.863 (n=78, P<0.01)

20:1 $\omega$ 9                r=0.716 (n=78, P<0.01)

\* 18:1 $\omega$ 7cis; 炭素数18, 二重結合 1, 二重結合の位置が $\omega$ 位の炭素 7 ~ 8 番目の炭素原子間, 二重結合はシス型。

現在までに報告されている微生物のバイオマーカー脂肪酸のうち硫酸還元細菌, メタン酸化細菌, 硫酸酸化細菌を海底堆積物中に特徴的に棲息する微生物相と考え、これらのバイオマーカー脂肪酸を表 2 に示す。18:1 $\omega$ 7cis はすでにメタン酸化細菌のバイオマーカーであることが知られている (Nicholas *et al.*, 1986; Nichols *et al.*, 1985)。また、20:1 $\omega$ 9はメタン湧水帯の堆積物で特徴的に見られた脂肪酸である (高杉ほか, 1998)。このことから、この深度における微生物バイオマスの増加、減少にメタン酸化細菌が寄与していると考えられる (図 3, 4)。また、深度113~119 cmにおいては硫酸還元細菌のバイオマーカーであるiso15:0\* (1.59%) が18:1 $\omega$ 7cis (0.33%) よりも高い脂肪酸組成比を示していた (図 5)。これらのことから深度113~119 cmでは硫酸還元的な環境、その下の深度 119~146 cmではメタン酸化的な環境があり、すなわち深

表2 堆積物微生物相の指標となるバイオマーカー脂肪酸  
Table 2 biomarker fatty acids for estimation of sediment microflora.

| Fatty acid            | Microorganisms                                          | Reference *             |
|-----------------------|---------------------------------------------------------|-------------------------|
| 12:0                  | Facultative anaerobes                                   | (16)                    |
| 15:0                  | SRB (Desulfohalobium)                                   | (12)                    |
| 15:0 iso/anteiso      | SRB (Desulfovibrio), +                                  | (4)(9)(13)              |
| 15:1                  | SRB (Desulfohalobium), #                                | (16)                    |
| 16:0 iso              | SRB (Desulfovibrio), +, #                               | (1) (10)                |
| 16:0 10-Me            | SRB (Desulfobacter), +, #                               | (1)(2)(10)(14) (16)     |
| 16:1 ω 7              | SRB, campylobacters?, anoxic sediments                  | (9)(10)(13)             |
| 16:1 ω 5/ω 7/ω 8/ω 11 | Type I methane-oxidizers (seep-mussel symbionts)        | (7) (11)                |
| 17:0 iso/anteiso      | SRB (Desulfovibrio), +, #                               | (1) (2) (13)            |
| 17:0 cyclo (7,8)      | SRB (Desulfobacter), +, #                               | (10)(14)                |
| 17:1 ω 8/ω 11         | SRB (Desulfohalobium, Desulfovibrio), #                 | (4)(12)(13)(14)(15)(16) |
| 17:1 iso/anteiso      | SRB (Desulfovibrio), #                                  | (10)(13)(15)            |
| 18:0 iso              | SRB (Desulfovibrio)                                     | (10)                    |
| 18:1 ω 7              | SRB (Desulfohalobium, Desulfovibrio), thiobacilli, +, # | (3)(13)(15)             |
| 18:1 ω 7cis           | type II methane-oxidizers                               | (10)(11)                |
| 19:0 cyclo            | Thiobacilli, campylobacters, aerobes                    | (1)(2)(5)(6)(8)         |

\*(1) Baird and White 1985, (2) Baird et al. 1985, (3) Bobbie and White 1980, (4) Edlund et al. 1985, (5) Goodwin et al. 1985, (6) Goodwin et al. 1989, (7) Jahnke et al. 1995, (8) Kerger et al. 1986, (9) Mancuso et al. 1990, (10) Nicholas et al. 1986, (11) Nichols et al. 1985, (12) Parkes and Calder 1985, (13) Parkes and Taylor 1983, (14) Perry et al. 1979 (15) Taylor and Parkes 1983, (16) Taylor and Parkes 1985

+, anaerobes, #; marine sediments

度119 cmで硫酸還元-メタン酸化フロント (Masuzawa et al., 1992; 増澤, 1995) があると考えられる。また、堆積物中での硫酸還元とメタン酸化は共役していると想定されているが ( $\text{SO}_4^{2-} + \text{CH}_4 \rightarrow \text{HS}^- + \text{HCO}_3^-$ ; 増澤, 1995), P-5試料からの結果では共役している場合 (深度113~119 cm) と共役していない場合 (深度118~146 cm) のあることが示唆される。

\* isoはω位の炭素の隣の炭素原子に、anteはそれ以外の炭素原子に側鎖がついているもの。

P-5試料の上面から349~352 cm (地質年代155~156万年前; 堆積速度を2.57 mm/Kyrとして計算した。) に粗粒の固結層が存在する。この固結層を挟むように深度264~303 cm, 329~348 cm, 354~368 cm (地質年代122~137万年前, 147~155万年前, 157~162万年前; 堆積速度を2.57 mm/Kyrとして計算した。) において硫酸還元細菌のバイオマーカー脂肪酸である15:0, 15:1, iso15:0, ante15:0, iso16:0のピークがみられた (図6)。

固結層を構成する粒子は特徴的に粗い粒子 (砂粒) であ

る。対照的に、非固結層は微粒の粘土粒子からなっていて、これは遠洋性堆積物の特徴である。つまり、CBF海域の堆積物は基本的に外洋性微粒子からなり、固結層のみに粗粒の砂粒子があるということは、固結層形成時に陸起源粗粒子の供給が強かったことが示唆される。この原因として、固結層形成期が氷河期であり深層流循環が活発に起こっていた、そして、海底が堆積的というよりも剥離的 (細粒物質が流し去られやすい) な状況において、固結層が形成されたと考えられる。

しかし、氷河期は70万年前までは約10万年周期、それ以前は約4万年周期で繰り返し訪れているのに (増田, 1991), なぜ固結層の形成は一回だけだったのかと言う問題が生じる。これに対する一つの考え方として、この固結層の形成には粗粒物質の供給とともに続成作用による膠着過程が必要であり、膠着過程がきわめて特異な地下環境において進行したということが想定できる。堆積物の圧密による間隙水の移動によって地下微生物の代謝が活性化され、物質の沈着 (バイオミネラリゼーション) が促

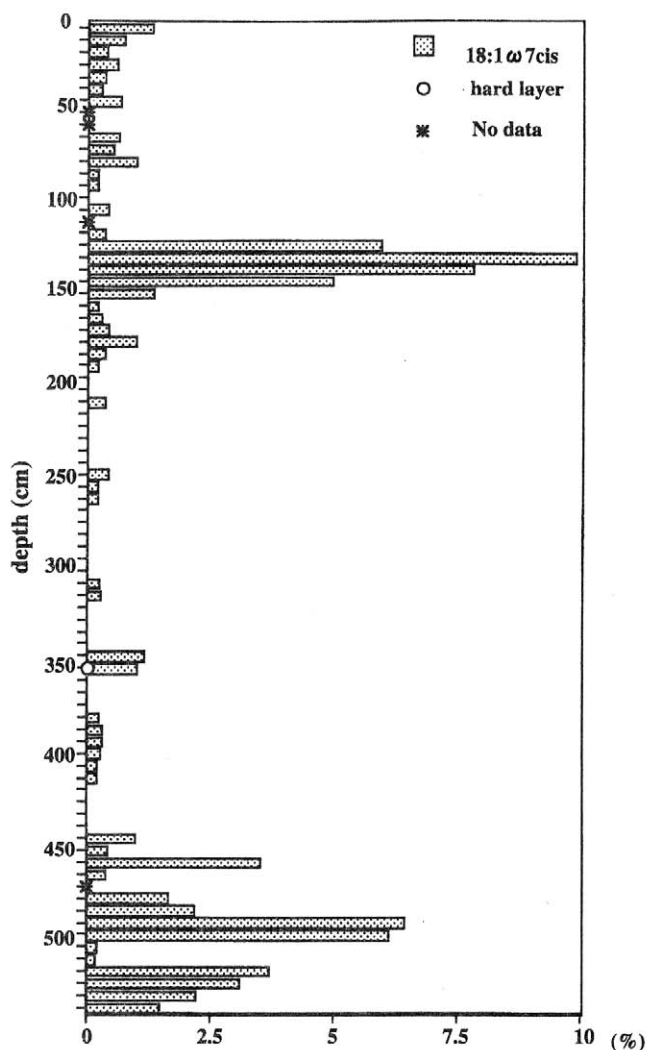


図3 メタン酸化細菌のバイオマーカー脂肪酸(18:1 $\omega$ 7cis) 組成比 (mol %)の深度プロファイル

Fig. 3 Vertical profile of the biomarker fatty acid for methane-oxidizers(18:1 $\omega$ 7cis) content (mol %).

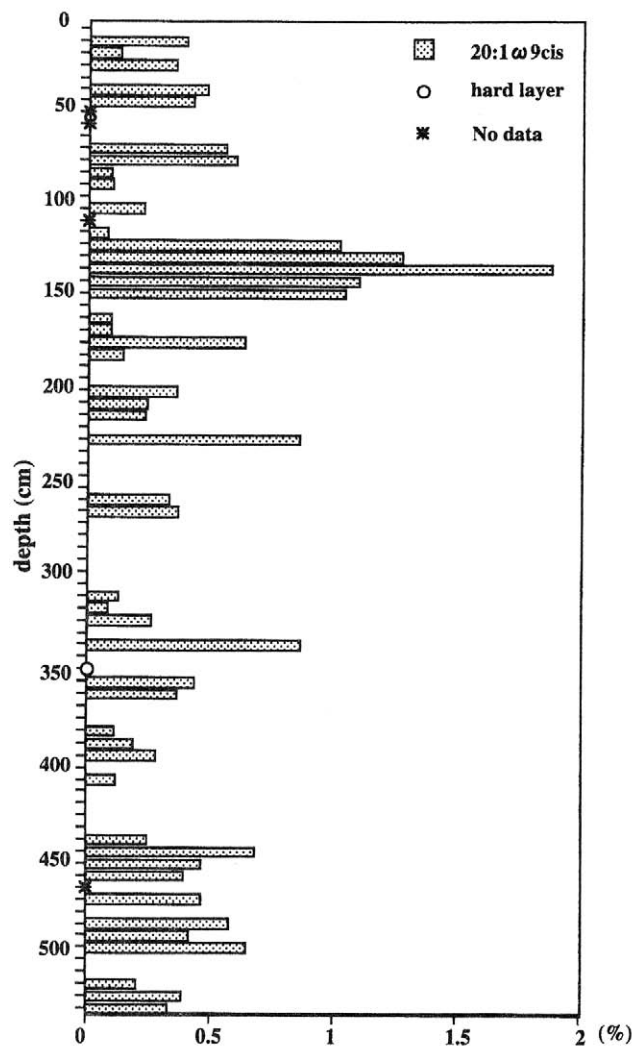


図4 “メタン湧水帯”バイオマーカー脂肪酸(20:1 $\omega$ 9cis) 組成比 (mol %)の深度プロファイル

Fig. 4 Vertical profile of the biomarker fatty acid for the “methane seep” microflora (20:1 $\omega$ 9cis) content (mol %).

進されたのであろう。微生物代謝には最適温度・最適圧力が存在するので、地下環境の限られた深度でのみ、バイオミネラリゼーションに関連した固結層形成が進行したと考えられる。

この考えは、固結層の上下層(深度約 260~320 cm および 370~380 cm)で含水率が高くなっていること(金松ほか, 1998)と関連する。つまり、堆積物の圧密による間隙水の移動にとって初期固結層が障壁として作用し、初期固結層の上下に堪った富有機物の地下水が「膠着微生物」を涵養した結果、固結層が肥大したという過程を想定できるのである。地下の嫌気的環境では有機物分解では硫酸イオンが酸化剤(電子受容体)として使われる、すなわち硫酸還元が行われる。硫酸還元はしばしばカルサイトやドロマイトなど炭酸塩岩の形成をともし(長沼, 2000)。これは、固結層の上下層に硫酸還元細菌のバイオ

マーカー脂肪酸のピークが見られたという事実からも示唆される。

### 3.3 デンドログラム

各堆積物試料の脂肪酸組成\*に基づいて堆積物試料間の類似度(近遠度)をクラスター解析し、その結果をユークリッド距離を用いてデンドログラムで図示した(図7)。

\* 脂肪酸組成には、同定はできなかったものの物質の含有量が大きく堆積物試料の特徴を表していると考えられる物質もデータとして加えてクラスター解析を行った。

デンドログラム上のサンプル名は以下の様式で付けられた。まず、採取された柱状堆積物 P-5 試料約 7 m を約 1 m ごとに分割し、これを表層から順に S-1(0~1 m 層), S-2(1~2 m 層), S-3(2~3 m 層), S-4(3~4 m 層),

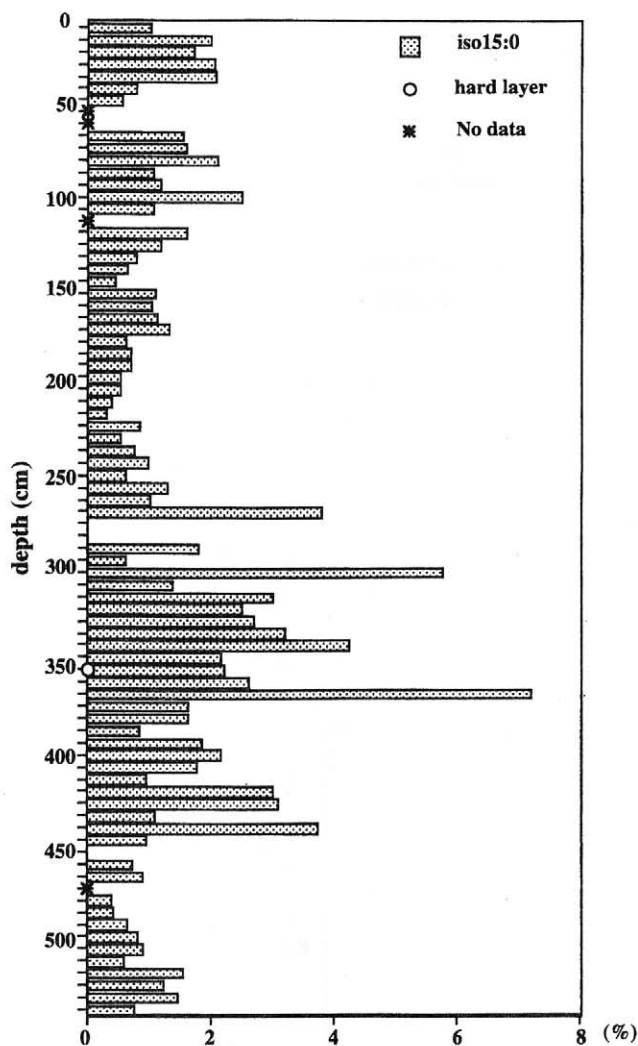


図5 硫酸還元細菌のバイオマーカー脂肪酸 (iso15:0) 組成比 (mol %)の深度プロファイル。

Fig. 5 Vertical profile of the biomarker fatty acid for sulfate-reducers (iso15:0) content (mol %).

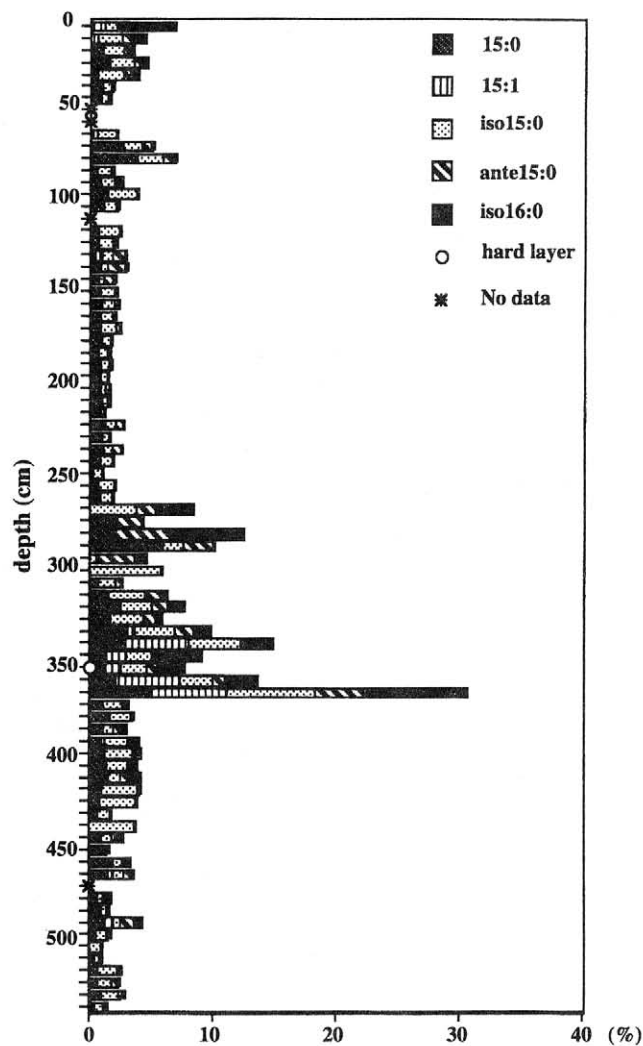


図6 堆積物各深度における硫酸還元細菌のバイオマーカー脂肪酸組成 (mol %)の深度プロファイル。

Fig. 6 Vertical profile of the biomarker fatty acids for sulfate-reducers content (mol %).

S-5(4~5 m層), S-6(5~6 m層), という番号をつけた。Sはsectionを表す。それぞれのsectionの堆積物をさらに6 cm間隔で分画し, 上位から順番に番号を付けた。「S-2-1」は海底面表層から1~2 m層(section 2)の上位1番目の分画(0~6 cm)の堆積物試料であることを示す。S-1(0~1 m層)試料では最上部が堆積物直上水により攪乱されたのでその部分を除去し, 非攪乱部として54~100 cm層(層長46 cm)のみを脂肪酸分析に用いた。サンプル名に対応する堆積物深度は表1を参考にされたい。また, 論文で特に取り上げるサンプル名のみデンドログラム上に表示した。

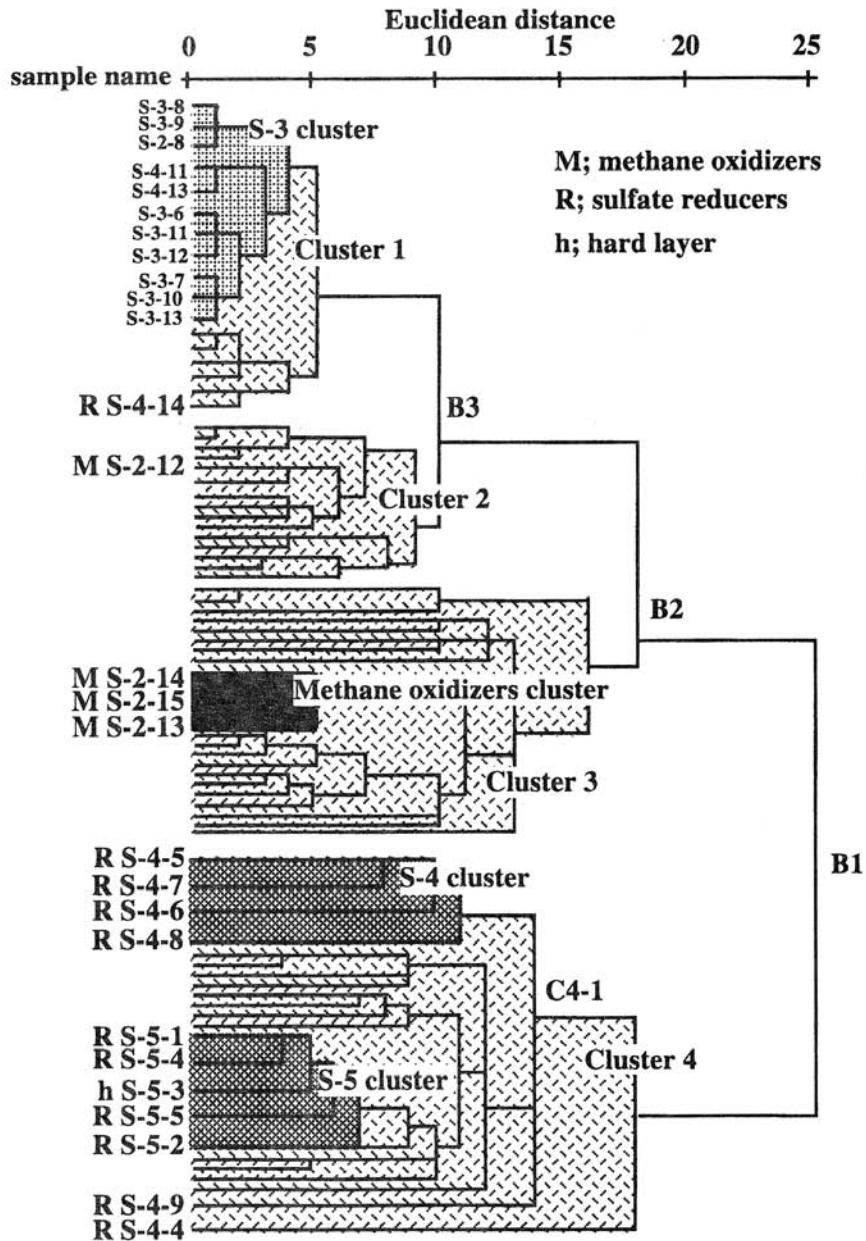
デンドログラムでは類似度(近遠度)の高いものほどユークリッド距離が短く, 脂肪酸組成による関係の遠近を直感的に把握できる。そのため, 脂肪酸組成が類似する堆積物試料はデンドログラム上では互いに近接して配置される。堆積物試料の脂肪酸組成は堆積物中の微生物

相を反映するものなので, デンドログラム上で近接する堆積物試料はその堆積物中の微生物相が似通っている, また逆に堆積物中の微生物相が異なっていれば, 堆積物試料は遠く配置される。

堆積物試料は大きく4つのクラスターに分けることができた。これらクラスターの分岐点(B1-B3)における分散分析(t検定)の結果, クラスター間で有意な差を示した脂肪酸14:0/13:1が4つのクラスター形成に大きく影響していることが分かった。この2種の脂肪酸はガスクロマトグラフィーでうまく分離できなかったが, 実質的にはほとんど14:0が卓越しているものと思われる。分岐点B1では14:0の脂肪酸組成比が高いクラスター(1, 2, 3)と, 低いクラスター(4)大きく二分された。クラスター1, 2, 3では全般的に14:0の割合が高かったが, その中でもさらに14:0の高低に差が見られ, 分岐点B2ではさらに14:0,

図7 堆積物試料のリン脂質脂肪酸組成に基づくデンドログラム

Fig. 7 Dendrogram based on the phospholipid fatty acids compositions from different layers of the sediment core taken in the Central Basin Fault area.



iso18:0の脂肪酸組成比が低いもの(クラスター 3)と高いもの(クラスター 1, 2)に分けられた。分岐点 B3 では脂肪酸組成比14:0が高く, 21:0が低いもの(クラスター 1)とその逆, 脂肪酸組成比14:0が低く, 21:0が高いもの(クラスター 2)に分けられた。それぞれ4つのクラスターを特徴づける要因として, 前述したバイオマーカー脂肪酸から予測されたメタン酸化的な層(深度119~146 cm, S-2-12~13), 固結層前後の硫酸還元的な層(深度264~303, 329~348, 354~368 cm; S-4-4~9, S-4-14, S-5-1, 2, S-5-4, 5)に注目したが, デンドログラム上では必ずしも近接して配置されていなかった。しかし, S-3, S-4, S-5クラスターは連続した深度の堆積物試料から成るクラス

ターであった。とくに S-3 クラスターに属する堆積物試料は 14:0 の脂肪酸組成比が非常に高いものであった。S-4 と S-5 クラスターはバイオマーカー脂肪酸から硫酸還元的环境の層と考えられる。しかし, 分岐点 C4-1 において S-4 クラスターは 12:0/11:1 脂肪酸組成比が高いもの, S-5 クラスターは 21:0 脂肪酸組成比が高いもので分けられた。12:0 は通性嫌気性細菌のバイオマーカー脂肪酸であり, S-4 クラスターの堆積物層には S-5 クラスターの堆積物層に比べて通性嫌気細菌が多く存在していたと考えられる。

堆積物中の微生物相は「堆積物中の環境」つまり, 堆積物層に含まれる有機物の量や, 深度増加に伴う酸化還元

電位の変化などに対応して変化していくと考えられる。また逆に、深度に対して比較的「堆積物中の環境」が安定していれば微生物相は急激に変化しないと考えられる。では「堆積物中の環境」が急激に変化する所、例えば有機物含量の高い堆積物層に変化する層「高有機物層フロント」における微生物相と、有機物含量の高い堆積物層の微生物相とでは少し異なった微生物相が形成されていると考えられる。同様に、メタン酸化細菌相が存在する堆積物層「S-2-12~15」のうち、S-2-12がその他の堆積物層から遠く配置されていたのは、S-2-12が硫酸還元-メタン酸化フロントの堆積物層であり、メタン酸化細菌相に属するがその下層の「安定メタン酸化細菌相」とは異なる微生物相であったためだと考えられる。また、硫酸還元細菌相が存在する堆積物層「S-4-4~9, S-4-14, S-5-1, 2, S-5-4, 5」のうち、S-4, S-5の硫酸還元細菌相クラスターから遠く配置されたS-4-4堆積物層の上層には硫酸還元細菌のバイオマーカーはほとんど見つかっておらず(2%未満)硫酸還元フロントと考えられる(図6)。また、S-4-9はiso15:0が卓越した硫酸還元細菌相(図6, 7), S-4-14は14:0を多く含む微生物相であったため dendrogram 上でS-4, S-5の硫酸還元細菌相クラスターから遠く配置されたと考えられる。

#### 4. 謝 辞

本調査研究を可能にしてくださった「かいいい」クルーの皆様、乗船研究者各位に深く感謝します。実験の指導をして頂いた。通産省中国工業技術研究所の山岡到保先生、実験及び論文制作にあたりご協力頂きました生物海洋学研究室の皆様方に感謝いたします。本研究を遂行するにあたって終始ご指導いただきました、広島大学生物生産学部長沼毅助教授に心から感謝の意を表します。

#### 引用文献

- 1) Baird, B. H. and D. C. White (1985): Biomass and community structure of the abyssal microbiota determined from the ester-linked phospholipids recovered from Venezuela Basin and Puerto Rico Trench sediments. *Mar. Geol.*, **68**, 217-231.
- 2) Baird, B. H., D. E. Nvens, J. H. Parker and D. C. White (1985): The biomass, community structure, and spatial distribution of the sedimentary microbiota from a high-energy area of the deep sea. *Deep-Sea Res.*, **32**, 1089-1099.
- 3) Berger, W. H., M. K. Yasuda, T. Bickert, G. Wefer and T. Takayama (1994): Quaternary time scale for the Ontong Java Plateau: Milankovitch template for Ocean Drilling Program site 806. *Geology*, **22**, 463-467.
- 4) Bobbie, R. J. and D. C. White (1980): Characterization of benthic microbial community structure by high-resolution gas chromatography of fatty acid methyl esters. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 1212-1222.
- 5) Davies A. and S. Gorslin (1976): Oceanic sediments and sedimentary processes. In Riley J. and R. Chester (eds.), *Chemical Oceanography*, 2<sup>nd</sup> ed., 5. Academic, San Diego, CA.
- 6) DeLong, E. F. and A. A. Yayanos (1985): Adaptation of the membrane lipids of a deep-sea bacterium to changes in hydrostatic pressure. *Science*, **228**, 1101-1102.
- 7) DeLong, E. F. and A. A. Yayanos (1986): Biochemical function and ecological significance of novel bacterial lipids in deep-sea prokaryotes. *Appl. Environ. Microbiol.*, **51**, 730-737.
- 8) Dobbs, F. C. and R. H. Findlay (1993): Analysis of microbial lipids to determine biomass and detect the response of sedimentary microorganisms to disturbance. In Kemp, P. F., B. F. Sherr, E. B. Sherr and J. J. Cole (eds.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 347-58.
- 9) Edlund, A., P. D. Nichols, R. Roffey and D. C. White (1985): Extractable and ipopolysaccharide fatty acid and hydroxy acid profiles from *Desulfovibrio* species. *J. Lipid Res.*, **26**, 982-988.
- 10) 藤岡換太郎(1997): 深海底の科学. 日本放送出版協会, 249pp.
- 11) Fujioka, K., T. Kanamatsu, A. Sasaki, Y. Ohara, L. Sakamoto, S. Haraguchi and T. Ishii (1997): Morphology and geology of extinct spreading center in the Philippine Sea Plate -result of the Yokosuka Y96-11 cruise-. *JAMSTEC 深海研究*, **13**, 155-194.
- 12) Goodwin, C. S., R. K. McCulloch, J. A. Armstrong and S. H. Wee (1985): Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter phyloridis*) from the human gastric mucosa. *J. Med. Microbiol.*, **19**, 257-267.
- 13) Goodwin, C. S., W. McConnell, R. K. McCulloch, C. McCullough, R. Hill, M. A. Bronsdon and G. Kasper (1989): Cellular fatty acid composition of *Campylobacter pylori* from primates and ferrets compared with those of other *Campylobacters*. *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 938-943.
- 14) Honza, E. and K. Tamaki (1985): The Bonin Arc. In Alan, E. M. et al. (eds.), *The ocean basins and margins*, Plenum Press, New York, 459-502.
- 15) 池原 研・金松敏也・藤岡換太郎・松岡裕美・川村喜一郎・土橋正也・加藤和浩・高杉秀美・金子吾郎 (1998): パレスベラ海盆中央部の深海底から採取された厚層タービダイト. *JAMSTEC 深海研究*, **14**, 193-204.
- 16) Jahnke, L. L., R. E. Summons, L. M. Dowling and K. D. Zahiralis (1995): Identification of methanotrophic

- lipid biomarkers in cold-seep mussel gills: chemical and isotopic analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 576-582.
- 17) 金松敏也・藤岡換太郎・池原 研・松岡裕美・川村喜一郎・土橋正也・加藤和浩・金子吾朗・高杉秀美・小寺透・本尾朝光 (1998): KR98-01によって西フィリピン海で採取された遠洋性堆積物の岩相・年代. *JAMSTEC深海研究*, **14**, 205-211.
  - 18) Kato, C., L. Li, Y. Nogi, Y. Nakamura, J. Tamaoka and K. Horikoshi (1998): Extremely barophilic bacteria isolated from the Mariana Trench, Challenger Deep, at a depth of 11,000 meters. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 1510-1513.
  - 19) Kerger, B. D., P. D. Nichols, C. P. Antworth, W. Sand, E. Bock, J. C. Cox, T. A. Langworthy and D. C. White (1986): Signature fatty acids in the polar lipids of acid-producing *Thiobacillus* spp.: methoxy, cyclopropyl, alpha-hydroxy-cyclopropyl and branched and normal monoenoic fatty acids. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **38**, 67-77.
  - 20) Mancuso, C. A., P. D. Franzmann, H. R. Burton and P. D. Nichols (1990): Microbial community structure and biomass estimates of a methanogenic Antarctic lake ecosystem as determined by phospholipid analyses. *Microbiol. Ecol.*, **19**, 73-95.
  - 21) Martinson, D. G., N. G. Pisias, J. D. Hays, J. Imbrie, T. C. Moore, Jr. and N. J. Shackleton (1987): Age dating and the orbital theory of the ice Ages: Development of a High-Resolution 0 to 300000-Year chronostratigraphy. *Quaterna. Resear.*, **27**, 1-29.
  - 22) 増田富士雄 (1989): 過去 6 億年間の気候変動にみる周期-酸素同位体変遷史と地球系の同時摂動. *科学*, **59**, 455-463.
  - 23) 増田富士雄 (1991): 古気候変動史から見た現在. *地学雑誌*, **100**, 976-987.
  - 24) 増澤敏行 (1995): 深海‘冷湧水’生態系・相模湾初島沖深海シロウリガイ群集. *月刊海洋*, 号外 **8**, 180-187.
  - 25) Masuzawa, T., N. Honda, H. Kitagawa and M. Kusakabe (1992): Sulfate reduction using methane in sediments beneath a bathyal cold seep giant clam community off Hatsushima Island, Sagami Bay, Japan. *Earth. Plan. Scie. Lett.*, **110**, 39-50.
  - 26) Naganuma, T., H. Wada and K. Fujioka (1996): Biological community and sediment fatty acids associated with the deep-sea whale skeleton at the Torishima Seamount. *J. Oceanogr.*, **52**, 1-15.
  - 27) Naganuma, T., C. J. Meisel, H. Wada, Y. Kato, A. Takeuchi, K. Fujikura, J. Naka and K. Fujioka (1999): Sea-floor fissures, biological communities and sediment fatty acids of the Northern Okushiri Ridge, Japan Sea: Implications for possible methane seepage. *The Island Arc*, **8**, 232-244.
  - 28) 長沼 毅 (2000): 海洋微生物の地球化学的多才性—末端電子受容体 (TEA) の多様性. 投稿中
  - 29) Nicholas, J., E. Dowling, P. Widdel, D. C. White (1986): Phospholipid ester-linked fatty acid biomarkers of acetate-oxidizing sulfate-reducers and other sulphide-forming bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, **132**, 1815-1825.
  - 30) Nichols, P. D., G. A. Smith, C. P. Antworth, R. S. Hanson and D. C. White (1985): Phospholipid and lipopolysaccharide normal and hydroxy fatty acids as potential signature for methane-oxidizing bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **31**, 327-335.
  - 31) Okino, K., Y. Ohara, S. Kasuga and Y. Kato (1999): The Philippine Sea: new survey results reveal the structure and the history of the marginal basin. *Geophys. Res. Lett.*, **26**, 2287-2290.
  - 32) 沖野郷子 (1998): 西フィリピン海盆の発達史. 第15回しんかいシンポジウム予稿集, 69.
  - 33) Parkes, R. J. and A. G. Calder (1985): The cellular fatty acids of three starins of *Desulfobulbus*, a propionate-utilising sulphate-reducing bacterium. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **31**, 361-363.
  - 34) Parkes, R. J. and J. Taylor (1983): The relationship between fatty acid distribution and bacterial respiratory types in contemporary marine sediments. *Estu. Coast. Shelf Sci.*, **16**, 173-189.
  - 35) Perry, G. J., J. K. Volkman, R. B. Johns and H. J. Bavor Jr. (1979): Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, **43**, 1715-1725.
  - 36) Rajendran, N., O. Matsuda, N. Imamura, and Y. Urushigawa (1992): Variation in microbial biomass and community structure in sediments of eutrophic bays as determined by phospholipid ester-linked fatty acids. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 562-571.
  - 37) Rajendran, N., O. Matsuda, Y. Urushigawa and U. Shimadu (1994): Characterization of microbial community structure in the surface sediment of Osaka Bay, Japan, by phospholipid fatty acid analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 248-257.
  - 38) Sasser, M. (1990): iTracking a strain using the microbial identification system. *MIDI Technical Note* (MIDI, Newark, Delaware), **102**, 1-4.
  - 39) 高杉秀美・長沼毅・藤倉克則・山本智子・服部陸男・山本啓之・小川勇二郎 (1998): 堆積物脂肪酸によるメタン湧水帯微生物層の解析. *JAMSTEC深海研究*, **14**, 609-619.
  - 40) Taylor, J. and R. J. Parkes (1983): The cellular fatty acids of the sulphate-reducing bacteria, *Desulfobacter* sp., *Desulfobulbus* sp. and *Desulfovibrio desulfuricans*. *J. Gen. Microbiol.*, **129**, 3303-3309.

- 41) Taylor, J. and R. J. Parkes (1985): Identifying different populations of sulphate-reducing bacteria within marine sediment systems, using fatty acid biomarkers. *J. Gen. Microbiol.*, **131**, 631-642.
- 42) White, D. C., W. M. Davis, J. S. Nickels, J. D. King, and R. J. Bobbie (1979): Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. *Oecologia.*, **40**, 51-62.
- 43) White, D. C. (1983): Analysis of microorganisms in terms of quantity and activity in natural environments. In Slater, J. H., R. Whittenbury, and J. W. T. Wimpenny, (eds.), *Microbes in Their Natural Environments*, Society for General Microbiology, London, 34, 37

(原稿受理：2000年 1 月27日)