

浅海域の微生物学的研究—V

夏季内湾底層の貧・無酸素域における硫酸
還元細菌ならびに硫黄細菌群の分布について

藤田 雄二・飯塚 昭二・銭谷 武平

Microbiological Studies on Shallow Marine Areas - V

On the distribution of the sulfate-reducing bacteria and
sulfur bacterial groups in oxygen-deficient or anoxic
bottom layer of bay in summer

Yuji FUJITA, Shoji IIZUKA and Buhei ZENITANI

In connection with the formation of oxygen-deficient or anoxic layer, the distribution of bacterial groups which produce or oxidize the sulfides and some oceanographic factors in their environment were investigated in summer 1968 and 1969 at Omura Bay, west coast of Kyushu.

Phytoplankton blooms which had increased in early summer appeared to sink down from the middle layer to the bottom while consuming dissolved oxygen because of the oxidative decomposition of planktonic matter by heterotrophic bacteria. In general, dissolved oxygen and both Eh and pH values remarkably decreased in bottom water below a depth of about 16 m. Sulfate-reducing bacteria and aerobic or anaerobic thiobacilli most of which seemed to be facultative autotrophic were commonly found in bottom water, while photosynthetic sulfur- and non-sulfur bacteria were variable in their distribution. It appeared that bacteria were relatively active in bottom and that thiobacilli might participate partly in the consumption of dissolved oxygen due to the biochemical oxidation of reduced sulfur compounds. A schematic diagram on some chemical characters of sea water and distribution of bacterial groups in the bay was presented.

さきに大村湾の中央水域で、夏季底層中に現われる無酸素化現象に関し、硫酸還元細菌の活性増加によって生成した硫化物を酸化するため溶存酸素が消費され、これが無酸素化にいたる一因であると報告¹⁾した。この研究は、硫化水素が単に化学的酸化のみならず微生物による生化学的酸化もうけると考えられるため、まず還元イオウ化合物酸化性細菌群の存在を立証することと、その分布状態を水質環境条件と関連して把握し、浅海・内湾の微生物生態をより明確に理解するために企図したものである。

この報告では、梅雨期以後のプランクトン増加期から8月の底層が無酸素化するまでの

期間にわたって、主として中層以深の水質変化を追跡するとともに硫化物の生成・酸化消費に関与する細菌群の分布調査をした結果について述べる。

研究 方 法

1. 観測地点および期間：1968年7月から8月および1969年8月から9月の2年にわたって、Fig. 1 に示した定点4・5において観測を行なった。これら以外の定点でも一部の観測を実施した。

2. 採水および採泥法：細菌数の測定には海水を無菌的に採取した。他は既報¹⁾²⁾に同じ。

3. 海況および水質検査：特記しないかぎり既報¹⁾²⁾に同じ。酸化還元電位は携帯用 Eh 計（東亜電波製）を用い、投入型電極を垂下測定するか、あるいは採水後空気との接触を断ち普通電極を用いて測定し、いずれも10分後の示度を採った。全鉄と二価鉄は GJESSING の方法³⁾で測定した。

4. プランクトン計数：植物プランクトン数はホルマリン固定をしない試料について採取当日中に検鏡・計数した。

5. 細菌数の測定：細菌数は Table 1 に示した方法で測定した。培養条件は同時に併記した。なお *Thiobacillus* 属細菌測定培地に生育する菌株には絶対的独立栄養型のもの以外に条件的独立栄養型をも含まれる。

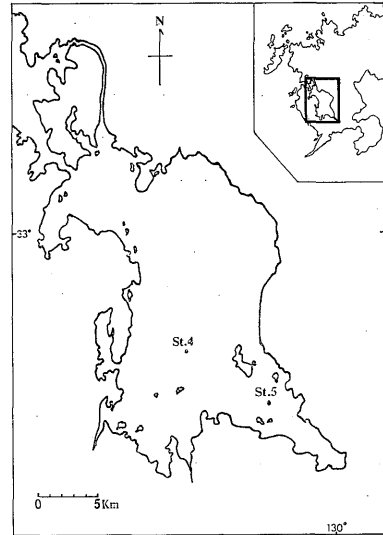


Fig. 1. Sampling stations in Omura Bay, west of Kyushu.

結 果

1. 貧・無酸素層形成への移行過程における環境要因の変化

1968年7月と8月に5回観測した結果を Fig. 2 に示す。溶存酸素は前半では不規則ながら深層にかけて減少し、後半では中層から底部にかけて漸減の傾向を示す。8月の環境変化の経過は例年観察されるものと類似しており、1969年の結果も同じ傾向であった。海水の pH は17~18m前後の深さから底部にかけて低下が著しく、また水温も18m付近から底部に向って低下の傾向がある。硫化水素は20m層のみで測定されたが、まれに16m層でも呈色反応によってコン跡量が検出された。1968年は1967年に比べて硫化水素生成量は少なかったが、1969年の結果もあわせて考えると、中央水域底層では盛時でもおおむね0.2~1.5mg/Lであろう。また酸化還元電位の変化は Fig. 3 に rH_2 で示したが底面上1~3mから底部にかけて急激な低下を見せ、最深部では硫化水素を含むため還元状態を示す。一般的に全炭酸量・溶存酸素量・酸化還元電位・全鉄量・ Fe^{2+} /全鉄量などの推移を見ると最深部の rH_2 は著しく低いが、夏枯れの盛夏に向かうにしたがって酸化還元電位の低下の傾向がわずかながら次第に中層部にかけて波及し、かつこの領域での全炭酸量は多くなっている。

水質変化のうち、特に7月後半における中層以深の溶存酸素の減少は、主として植物プラ

Table 1. Methods of enumeration of bacteria.

Constituent of medium g/L	Sulfate reducing bacteria	Thiobacilli		Photosynthetic sulfur bacteria	Photosynthetic nonsulfur bacteria	
		aerobic	anaerobic		A	B
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	Hata ⁴⁾	10	5	2	Taga ⁵⁾	
Na ₂ S·9H ₂ O				1		
NH ₄ Cl		0.1	0.1	1		0.1
KNO ₃			2.0			
NaHCO ₃			0.5	2		
Na ₂ CO ₃						2
K ₂ HPO ₄		0.2	0.2			
KH ₂ PO ₄				1		0.5
FeCl ₃ ·6H ₂ O		0.001	0.001	0.0005		
Na benzoate						0.5
Yeast extract						0.1
Agar			3	3		3
75% aged seawater, ml		1,000	1,000	1,000		1,000
pH		7.8	7.8	7.5		7.5
Count by	MPN	MPN or MP	MPN	MPN or MP	MPN	MPN
Culture condition	7 days at 22°C	3 weeks at RT	3 weeks at RT	5 weeks at RT	3 weeks at RT	3 weeks at RT

MPN; A three-tube most probable number method.

MP; Millipore filter method (HA 0.45 μ, 47mm, 1.5% agar plate).

RT; Room temperature. 1 ml of 0.2% phenol red water solution was added to the media of thiobacilli.

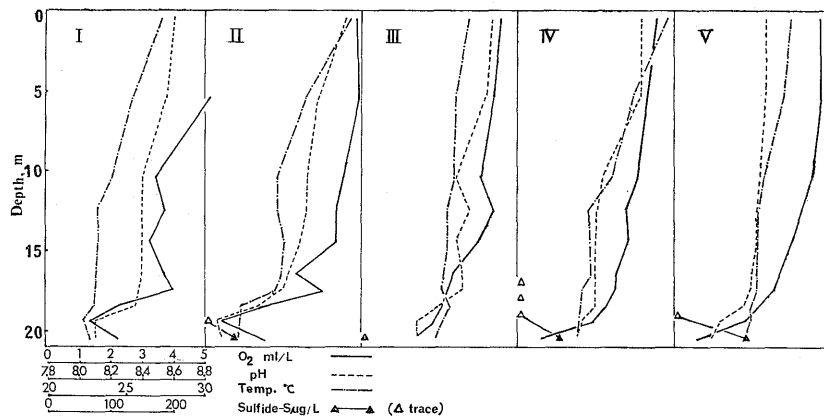


Fig. 2. Vertical changes in pH, temperature, dissolved oxygen and the sulfides in the central part of Omura Bay in summer 1968. I; 20 July, II; 26 July, III; 3 August, IV; 9 August and V; 23 August.

ンクトンの枯死・崩壊に伴う酸化分解によるものと思われる。1968年7・8月の中央水域(定点4)における植物プランクトンの発生状況を示すと Fig. 4 のようで、7月中には持続した大増殖期があり、全数 $6 \times 10^6/L$ にも達したが、下旬には $5 \times 10^5/L$ 以下に衰滅した。この衰滅期には、おそらく中層以深にかけてプランクトンが微生物による酸化分解を受け、溶存酸素を消費しつつ次第に沈降し、また8月にはプランクトンの小発生を見られたけれども、有機物分解の大部分は底部の堆積中で行なわれたものと思われる。

以上のような環境要因の変化状態から判断して、おおむね16m以深ではプランクトン遺がいなど有機物分解、硫化水素発生などの微生物作用が活発に進行し、貧・無酸素層の形成に寄与しているものと考えられる。

2. 硫化物の生成・酸化消費に関する細菌群の分布

中央水域底層における硫化水素生成は、すでに報告¹⁾したように主に硫酸還元細菌の作用による。海水環境中では発生硫化水素は酸化されてチオ硫酸を生成しやすく⁶⁾、また低濃度硫化水素を含む湖水中でも硫黄細菌の作用は硫化水素の酸化によって生成したチオ硫酸の酸化が主であるとされている⁷⁾。この研究において、硫化物を酸化する細菌群の検出にはすべてチオ硫酸ナトリウム・無機塩培地を使用した。

(1) 硫酸還元細菌の分布 (Fig. 5)

1968年底層水についての測定では、20m層で菌数が $10^{1-2}/ml$ であったが16m層ではもはや検出されなかった。1966年と1967年の底質中の菌数は、底質表層(0~5cm)でおおむ

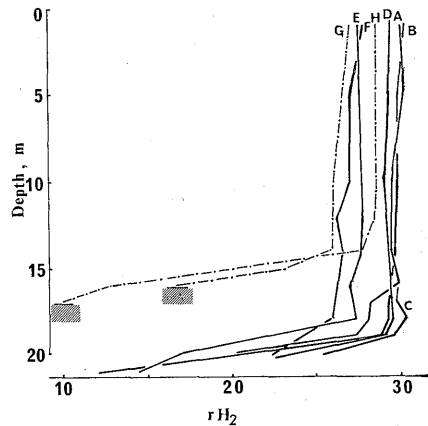


Fig. 3. Vertical changes in redox potential (rH_2) of seawater at stations 4 (A~F) and 5 (G~H).

A; 26 July, B; 3 Aug., C; 9 Aug., and D; 22 Aug., 1968. E; 18 Aug., F; 28 Aug., G; 23 Aug., and H; 11 Sept., 1969.

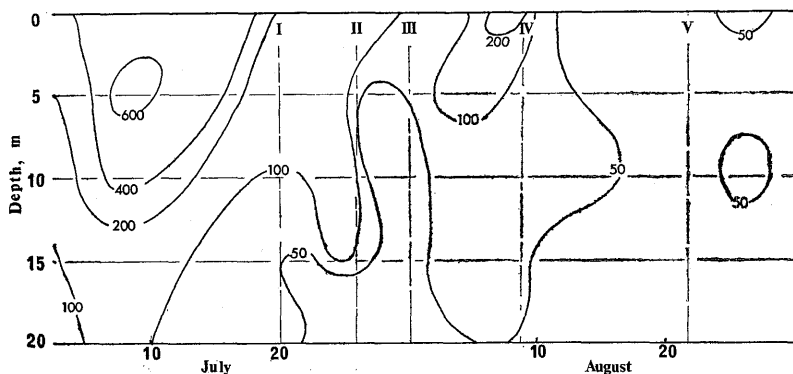


Fig. 4. Vertical distribution of diatoms ($\times 10^4/L$) in the central part of Omura Bay in summer 1968. I~V...same as in Fig. 2.

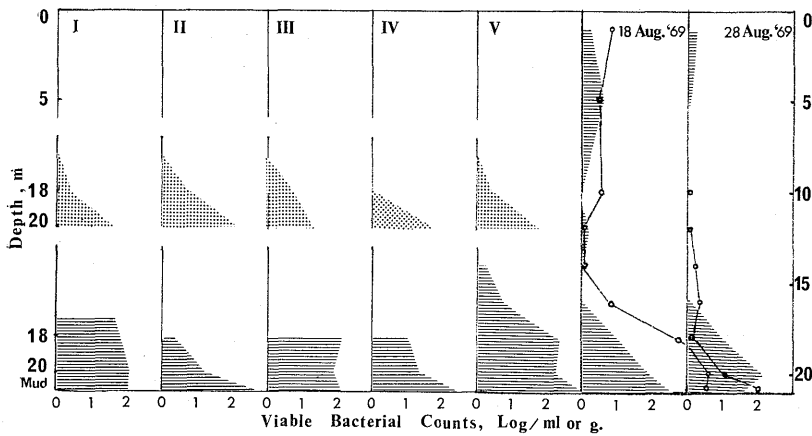


Fig. 5. Vertical distribution of sulfate-reducing bacteria, aerobic and anaerobic thiobacilli in the central part of Omura Bay in summer. I~V... same as in Fig. 2. Left upper ... sulfate-reducing bacteria, lower ... aerobic thiobacilli and open circle ... anaerobic thiobacilli.

ね $10^{2-3}/g$ であった^{1, 2)}。

(2) 好気性 *Thiobacillus* 属細菌の分布

1968年はもっぱら底層部のみを対象にし、20m層では $10^{1-2}/ml$ 程度の菌数を検出した。1969年は上層部までの垂直分布を調べたが、前年の結果とあわせ判断すると16m層付近から底部にかけて増加し、硫酸還元細菌の分布域ないしくらかその上層まで分布するように見える (Fig. 5)。1968年9月に赤潮発生した定点5では、底面上10m層まで $10^{2-3}/ml$ のこの属の細菌が検出された。純離菌株のチオ硫酸塩利用力を各種の培地で比較測定した結果では、過半数が有機栄養海水培地中で最もよく利用し、すなわちチオ硫酸と有機物を酸化し条件的独立栄養型の性質を示したが、絶対的独立栄養型菌株は比較的少なかった。これら菌株の還元イオウ化合物酸化および同酸化に対する有機物の影響については別に報告の予定である。なお1968年分離株は培地をアルカリ化するのが主体であったのに比べて1969年分離株は酸性化するのが優占的であった。

(3) 嫌気性 *Thiobacillus* 属細菌の分布

嫌氣的に成育するのは *T. denitrificans* に該当する菌群がおもであるが、海水性 *T. thioparus* 群⁸⁾も嫌氣的に成育できる。嫌氣的に成育した *Thiobacillus* 属細菌群はその分布域において、好気性のものと大きな相違が認められなかった。おそらく嫌気性菌群のうちには、脱窒性菌種以外に通性嫌気性の本属細菌がかなり含まれていると思われる。

(4) 光合成細菌類の分布

光合成イオウ細菌類は嫌気条件で成育し、直接溶存酸素を消費しないが硫化物を利用する。また光合成細菌の多数増殖によっていわゆる赤潮状況⁹⁾を呈する場合もあるので、非イオウ光合成細菌の菌数もあわせて測定した。Table 2 に示すように、1968年定点4における分布は、底質と深層海水中にとどまり、出現コロニーの呈色はかつ色系が多数を占めた。1969年には赤潮多発水域に属する定点5で観測したところ、8月23日にかかなり上層まで光合成イオウ細菌と光合成非イオウ細菌とが分布する事実を見出した。これら光合成細

Table 2. Vertical distribution of photosynthetic sulfur-and nonsulfur bacteria in Omura Bay in summer 1968 and 1969.

Depth m	Photosynthetic sulfur bacteria				Photosynthetic nonsulfur bacteria				
	Station 4		Station 5		23Aug.		11 Sept. '69		
	20	26 July	3	9 22 Aug. '68	23Aug.	11 Sept. '69			
1				910	0	0*	0**	0*	0**
5				430	0	36	91	0	0
10				2400	36	36	390	0	0
12					0			0	0
13				11000		36	430		
14				930	91	0	430	0	36
15				24000<		36	430		
16				24000<	750	430	2400	0	160
17				Bottom	24000	Bottom	Bottom	0	2400
18	4		0	0	0			Bottom	Bottom
19	0	10	0	0	0				
20	36	230	230	730	0				
Mud		9300	9300	0	910	24000<	4300	0	24000

Viable bacterial count per 100 ml of seawater or 100 g of mud. * Medium A and ** medium B of photosynthetic nonsulfur bacteria in Table 1.

菌類のコロニーは赤かつ色〜かつ色が優占的であったが、紅色あるいは黄緑〜黄色を呈するものもかなり検出された。しかし9月11日の試料では、底層部からのみこれら細菌類が検出され1968年の定点4の場合と同じ傾向であった。定点4・5以外で赤潮発生時の試料から紅・緑色光合成細菌も分離したが、一般にこれらの光合成細菌の分布は変動が大きかった。底質試料から検出したこれら光合成細菌類も、水深・透明度などの環境条件を考慮すると、プランクトン遺がいなどととも沈降・集積したおそれもあり、海水性光合成細菌の分布・性状についてはなお検討すべき点が多い。

考 察

底層が無酸素化に向かう時期的推移をみると7月後半では植物プランクトンおよびそれ由来する有機物の酸化分解が主として中層以深から始まり、8月には硫化物生成などを伴う有機物分解が底質中および深部水層中で進行していることは1966年・1967年の底質、¹⁾²⁾1968年・1969年の底水層の変化から十分にうかがわれる。垂直的に変化をみた場合、底面上数m以内では溶存酸素の減少・Eh・pH・水温の低下などの変化が認められ、この領域内が微生物作用の旺盛な圏内であることを示唆し、このことは細菌群の分布状態からも裏書されている。

貧・無酸素現象下の環境要因および硫化物の生成・酸化に関与する細菌群の分布を1968年・1969年の観測結果をもとに模式的に示すとFig.6のようである。すなわち底質および近接還元水層中では、硫酸還元細菌の作用で硫化水素が発生し、その結果酸化還元電位が低下する。硫化水素含有海水に接する海水中的溶存酸素は硫化水素を酸化するために逐次消費されるが、底面上2〜3mの底水層では酸化還元電位の低下は回復している。この硫化水素酸化域とみなされる底部水層中に *Thiobacillus* 属細菌などが分布する事実は、硫化水素をはじめ還元イオウ化合物の酸化に部分的にこれら細菌類が関与していることを示すもので、溶存酸素の消費が硫化物の単に化学的酸化のみでないことを意味していると思われる。硫化水素の酸化域は酸化還元電位の変化状態や *Thiobacillus* 属細菌の分布状態

から見て底面上 3~4 m 層付近までと想像される。最近 ADAIR & GUNDERSEN¹⁰⁾ は同じような研究を行ない、海水環境において還元イオウ化合物の酸化は既知の陸棲型とは明らかに異なる細菌によって部分的に促進されるように見えると述べ、また条件の独立栄養型の *Thiobacillus* 属細菌などを分離している。

貧酸素域で酸化性有機物が残留する場合には、もちろん従属栄養細菌の酸化作用による溶存酸素消費も介在するか、盛夏における湾中央水域底部の無酸素状態の持続には底質・底層水中における硫化物の絶えざる生成とその酸化のための酸素消費が主役をなしているものと考えられる。

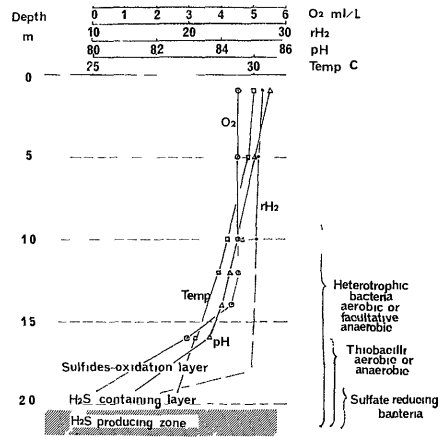


Fig 6 Schematic diagram of the distribution of some bacterial groups and the environmental factors (Data, mean value of 18 and 28 August, 1968)

要 約

夏季内湾底層に現われる無酸素化現象に関連して、硫化物生成・酸化消費する細菌群の分布およびそれらの環境要因の変化を研究してつきのような結果を得た。

1. 梅雨期以後に増殖した植物プランクトンは死後中層付近から以深にかけて酸化分解をしながら沈降し、8月には中層から底水層にかけて溶存酸素が漸減する傾向を認めた。
2. 一般的に約16m層以深では溶存酸素の減少、酸化還元電位・pHなどの低下が著しく、この領域内では微生物作用が活発であることを示した。
3. 上記領域には、硫酸還元細菌、好気性および嫌気性 *Thiobacillus* 属細菌などが一般に分布していたか、光合成イオウ細菌の分布にはかなりの変動が認められた。
4. 夏季内湾水層における環境の若干の特性と細菌分布の関係を模式的に図示し、硫化物の酸化についての考察を試みた。

終わりに実験に協力された竹中咄・中原幸治両君に謝意を表します。なおこの報告の一部は昭和44年2月15日日本水産学会九川支部例会において講演した。

文 献

1. 藤田・谷口・飯塚・銭谷：本誌. **24**, 79~88 (1967)
2. 藤田・谷口・銭谷：本誌. **23**, 187~196 (1967)
3. GJESSING, E. T. : *Limnol. Oceanogr.*, **9**, 272~274 (1964)
4. 畑 幸彦：水産大学校研究報告, **14** (2) , 37~83 (1965)
5. TAGA, N. : *Information Bulletin on Planktology in Japan, Commemoration Number of Dr. Y. MATUE's Sixtieth Birthday.* p. 219~229 (1967)
6. RICHARDS, F. A. : *Proc. 2nd int. Water Pollution Res. Conf., Tokyo.* p. 215~243 (1964)
7. SOROKIN, YU. I. : *Mikrobiologiya*, **37**, 523~533 (1965)
8. WOOD, E. J. F. : *Bacteriol. Rev.*, **22**, 1~19 (1958)
9. TRÜPER, H. G. and S. GENOVESE : *Limnol. Oceanogr.*, **11**, 225~232 (1966)
10. ADAIR, F. W. and K. GUNDERSEN : *Can. J. Microbiol.*, **15**, 345~353 (1969)