

TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

バイオフィルムを有する底部境界モデル培養系の確立と硫化物動態

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-01-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 石橋, 矩久 メールアドレス: 所属: |
| URL | https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/1484 |

博士学位論文内容要旨
Abstract

| | | | |
|---------------|--------------------------------|------------|-------|
| 専攻 Major | 応用環境システム学 | 氏名 Name | 石橋 矩久 |
| 論文題目 Title | バイオフィルムを有する底部境界モデル培養系の確立と硫化物動態 | | |

本研究では、底部境界について、実験室におけるモデル培養系を作成し、海域の底質からセディメントミックスバイオフィルムを再構成する手法を開発した。このセディメントミックスバイオフィルムを有する底部境界のモデル培養系を用いて、底部境界の硫化物と微生物の動態についての研究への適用を試みた。

セディメントミックスバイオフィルムはバクテリアとバクテリアが分泌する細胞外多糖が中心となって構成される複数種の微生物の集合体で、多くの海岸域等の底質表面に存在する。底部境界は海底堆積物と海水の境界面を中心に、物理・化学・生物環境の勾配を有するある幅を持った領域を指すが、セディメントミックスバイオフィルムの存在は底部境界の物質の移動や代謝に大きな影響を与えると考えられている。しかし底部境界、特にセディメントミックスバイオフィルムについては、実験室内で培養することが困難であり、この点が研究を進める上での障害となっていた。

本論文の第2章においては、セディメントミックスバイオフィルムを有する天然の底質からバイオフィルムを再構成して培養する手法を開発した。この手法の開発は、水産増養殖施設において、水質改善効果が見られるために広く用いられている有孔虫石灰岩粉末を添加すると、水槽底部においてバイオフィルムの生成が促進することを偶然見いだしたことが端緒となったものである。増養殖水槽底部の堆積物を、栄養顆粒（魚類初期用配合飼料）及び有孔虫石灰岩粉末と共に海水を入れたガラス容器の底面に置き静置培養した。数日後に、容器の液体表面に複数種の微生物から構成されるバイオフィルム（Floating biofilm）が形成された。天然の底質試料についても同じ方法で液体表面にバイオフィルムを得ることができた。この液体表面バイオフィルムは、十分な栄養顆粒を添加することでゲル状となり、このゲル状バイオフィルムの破砕物を、栄養顆粒及び有孔虫石灰岩粉末と共に、海水を入れた小型ガラス容器の底部に置き上げ、ガラス容器を水の動きを抑制した有酸素の海水を入れた小型水槽に置き培養した。数日後にガラス容器の堆積物表面にバイオフィルムが形成した。この一連の操作により実験室内で底質からセディメントミックスバイオフィルムを再形成させて一定期間培養を続けることが可能となった。

海底には岩石等の固体表面だけでなく、砂質や泥質のように堆積物粒子の間隙に水を含むもの（aquatic sediment）も多い。そこで第3章においては、このような底質を模した底部境界モデル培養系を作成した。また、この底部境界モデルの硫化物と微生物の測定と観察をした。水を有する底質（aquatic sediment）の底部境界モデル培養系は、底のあるアクリル円柱管の中央部にモデル底面のナイロンメッシュを張り二重底構造とした。この円柱管を水の動きを抑制した有酸素の海水を入れた小型水槽に置くことでモデル培養系とした。第2章の手法で得た液体表面バイオフィルムの破砕物を、栄養顆粒と有孔虫石灰岩粉末と共に、このモデル底面に置き上げて培養した。数日後にモデル底面の表面にバイオフィルムが形成され、モデル底面の下部には硫化物が蓄積した。その後、底面下部の硫化物はモデル底面のバイオフィルムを透過して、モデル底面の上部からも硫化物が検出された。この時、モデル底面の上部に白濁層が形成された。DGGE 解析（Denaturing gradient gel electrophoresis; 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動）と DGGE バンド塩基配列解析による簡易系統解析から、この白濁層には主に3種類のバクテリアの共存が示された。栄養量を変化させたところ、底部境界モデル系の硫化物

と微生物の動態は大きく変化した。特に栄養供給が過剰な実験系では稠密なセディメントミックスバイオフィームが構成され、モデル底面上部への硫化物の透過や白濁層の形成が行われないことが示された。

第4章においては、第3章のモデル系に加えて、いくつかの底部境界モデル系を用いて、モデル底面のバイオフィーム形成、底面下部の硫化物の生成と蓄積、硫化物の底面上部への透過、底面上部の白濁層形成、モデル底面上部と下部における溶存酸素消費について

定量的な検討を行った。

また、水槽を用いない直接タイプ底部境界モデル系を作成して、モデル底面下部の硫化物還元速度（すなわち硫化物生成速度）を求めた。

以上の各章の結果を総合し、本研究においては、実験室内でバイオフィームを底質表面に再構成して培養できる系を開発し、そのモデル系で観察された硫化物の挙動は、モデル底面および下部底質で生成された硫化物が上部の水柱に供給されて酸化されることを見いだした。このメカニズムは、東京湾等の青潮形成や塩水および淡水が恒常的に成層化している湖沼における生物起源硫黄を有する浮遊濃密バクテリア叢の形成とも類似していると考えられ、硫黄循環研究における実験室モデルとしての応用の可能性が示された。