

## 植物根圏は温室効果ガス代謝のホットスポット Plant rhizosphere is a hotspot for greenhouse gas emissions

南澤 究<sup>1\*</sup>

MINAMISAWA, Kiwamu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 根圏生物地球化学コンソーシアム、東北大学大学院生命科学研究科

<sup>1</sup> Consortium for Rhizosphere Biogeochemistry, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

根圏微生物研究の創始者である Hiltner は 1904 年にマメ科植物根の周辺土壌では細菌数が増加することを明らかにし、それは根粒から放出される窒素化合物の影響であると考察した。演者らは、ダイズ根粒は  $N_2O$  を吸収する能力が高いにも関わらず、圃場環境ではマメ科作物根圏から  $N_2O$  が発生するという矛盾に関心を持ち、分子生態学的手法により  $N_2O$  発生機構の解明を行ってきた。 $N_2O$  は強力な温室効果ガスであり、オゾン層破壊ガスでもあるからである。その結果、老化根粒では根粒タンパク質を物質的な起点とする一連の食物連鎖と窒素形態変化(根粒タンパク質→アンモニア→亜硝酸→ $N_2O$ )の中で  $N_2O$  が発生すると考えられた。また、 $N_2O$  から  $N_2$  への還元は *nosZ*+根粒菌が担っており、根粒根圏から発生した  $N_2O$  を吸収し  $N_2$  に還元するため、*nosZ*+根粒菌により根圏全体の  $N_2O$  発生が削減できることを室内実験および圃場レベルで明らかにした。 $N_2O$  から  $N_2$  への還元能力を強化した突然変異株 *nosZ*++根粒菌は、 $N_2O$  還元活性が高く、比較ゲノム解析からその原因となる遺伝子が同定された。

肥料削減は持続的農業の一つの目標である。窒素条件を変化させた水田に栽培したイネ植物体に生息している細菌群集構造の解析を行った。その結果、低窒素環境でイネ根に *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Methylosinus* 属の特定の細菌群の相対存在比が上昇した。機能遺伝子として、メタン酸化や植物ホルモン関連遺伝子の相対存在比が低窒素環境で上昇し、これらの現象は、定量 PCR および  $^{13}C$  標識メタン添加実験からも支持された。また、低窒素区のイネ根では、N, S, Fe および芳香族化合物の細菌代謝関連遺伝子が増加した。これらの結果は、低窒素環境が水稻根の共生細菌群集を形作る鍵因子であり、水田生態系の生物地球化学的過程に影響することを示唆している。植物は微生物共生を通じて窒素やリン等の栄養を獲得するため、栄養が貧弱な土壌でも生育できる。近年、イネ科植物にもマメ科植物の共生遺伝子 *CCaMK* が微生物共生に必須であることが示唆されている。微生物群集構造解析の結果、圃場生育した *CCaMK* 変異イネ根で *Rhizobiales* 目を含むいくつかの共生細菌が減少した。*Rhizobiales* 目細菌には窒素固定細菌やメタン酸化細菌が多く存在する。そこで、水田におけるメタンフラックスを調べた。日本晴と *CCaMK* 変異体 (NE1115) は、低窒素区においてメタンフラックスが有意に約 2 倍上昇した。一方、慣行区では両者に差が観察されなかった。種々の解析の結果、イネ *CCaMK* 遺伝子が低窒素環境でメタン酸化窒素固定微生物を受容している結果が得られた。 $^{15}N$  自然存在比の結果は、日本晴地上部における  $\delta^{15}N$  が NE1115 より有意に低く、空気中の軽い窒素で希釈されたため窒素固定が上昇したことが強く示唆された。以上の結果より、イネ *CCaMK* 遺伝子が低窒素環境でメタン酸化窒素固定微生物を受容していると考えられた。窒素施肥レベルなどの環境変動下の群集構造解析から、鍵微生物と推定される微生物の分離と特性解析を行った。

キーワード: メタン, 一酸化二窒素, 根圏, 根粒菌, 細菌, 安定同位体

Keywords: methane, nitrous oxide, rhizosphere, Bradyrhizobia, bacteria, stable isotope

## 微生物生態情報の把握は森林の窒素循環メカニズムの理解を深めるのか Does microbial ecology expand our understandings of nitrogen cycle in forests?

磯部 一夫<sup>1\*</sup>; 大手 信人<sup>1</sup>  
ISOBE, Kazuo<sup>1\*</sup>; OHTE, Nobuhito<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京大学

<sup>1</sup>The University of Tokyo

Forests cover approximately 70% of Japan's total land area, representing a largest reservoir of diversity of organisms including plants, animals, fungi, protists and prokaryotes on land. These organisms are closely associated each other in material cycles if not directly. Thus, we need to know how materials are cycling between the organisms in order to address a fundamental question in ecosystem ecology: why do forests have the richest biodiversity on land? However, it is not easy to understand the material cycles in a forest because the forest has the various environmental heterogeneity which greatly affect the cycle. For example, nitrogen dynamics can be different in soils around hills and valleys in forests. Such spatial heterogeneity of the dynamics in the soils has been explained mainly from phenomenological perspectives using abiotic information such as soil moisture, soil temperature or litter quality. However, these perspectives have not fully explained the dynamics. Here, we suggest that such heterogeneity need to be explained in the context of ecology of microbial communities which mediate the nitrogen dynamics. More specifically, we suggest that understanding the nitrogen dynamics based on the physiology, population dynamics and diversity of the microbial communities can provide the mechanistic insights into the nitrogen cycle in forests.

We analyzed the spatial heterogeneity of nitrogen dynamics and associated microbial communities in natural and planted forest soils in Asia. Specifically, we focused on nitrification in which ammonium are oxidized to nitrate and found the close association between gross nitrification rates and population size of nitrifiers in the soils. Additionally, nitrification rates cannot be fully explained by using environmental properties including substrate supply, soil moisture, soil temperature and litter quality, but can be explained by using the population size of nitrifiers. This shows that the better understandings of the microbial ecology allows us to more accurately predict the spatial heterogeneity of material cycles. In this presentation, we would like to discuss how information on microbial ecology expands our understandings of nitrogen cycle in forests.

キーワード: 微生物生態, 窒素循環, 森林

Keywords: microbial ecology, nitrogen cycle, forest

## ヒ素の環境挙動に影響を及ぼす微生物群集機能の解析 Diversity of microbial arsenic transformation pathways associated with arsenic cycling in the environment

濱村 奈津子<sup>1\*</sup>; 片岡 剛史<sup>1</sup>; 福島 江<sup>1</sup>

HAMAMURA, Natsuko<sup>1\*</sup>; KATAOKA, Takafumi<sup>1</sup>; FUKUSHIMA, Koh<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 愛媛大学沿岸環境科学研究センター

<sup>1</sup> CMES, Ehime University

Arsenic (As) is a naturally occurring toxic element that is widely distributed in nature. Although the concentrations of As in natural systems are generally low ( $\sim 15 \mu\text{g g}^{-1}$  in soil and  $\sim 10 \mu\text{g L}^{-1}$  in surface waters), the elevated levels of As have been released via natural sources (i.e. volcanic activity) and anthropogenic activities due to its increasing industrial use. As can exist in four oxidation states (-III, 0, III and V), while they are mainly found as trivalent [arsenite; As(III)] and pentavalent [arsenate; As(V)] in natural systems. Depending on its oxidation state, As exhibit different mechanisms of toxicity to microorganisms and other biota. As(III) is highly reactive with thiol containing proteins and is considered more toxic than As(V). Despite its toxicity, microorganisms have developed mechanisms to tolerate As and/or utilize the element for respiratory metabolism. Although various microorganisms have been identified to catalyze As transformation including both oxidation and reduction, we have just began to unveil the full diversity of different microbial processes associated with the redox cycling of As in the environment.

To gain insight into microbial roles in the geochemical dynamics of As, the combined geochemical, physiological and molecular biological analyses were applied to examine As-impacted environments and microcosms. Microbial populations were analyzed using 16S rDNA-based molecular approach combined with metagenomic sequencing. The presence of indigenous microbial populations capable of As transformation was examined by using both molecular approach targeting As functional genes and cultivation approach. The genes coding for arsenite oxidase (*aioA*), which catalyzes the oxidation of As(III) coupled to O<sub>2</sub> reduction, have been recovered from geochemically distinct geothermal habitats (pH 2.6-8) as well as the soils from mine tailing. Successful cultivation of various As(III)-oxidizing bacteria confirmed the microbial attribute in As oxidation *in situ*. In contrast, from the As impacted lake sediments and soils, diverse sequences of anaerobic arsenite oxidase (*arx*) and arsenate respiratory reductase (*arr*) genes were detected, while no *aio* genes were recovered. The anaerobic arsenite oxidase, Arx, is known to catalyze arsenite-oxidation coupled to nitrate reduction or photosynthesis. Consistent with the molecular approach, the anaerobic arsenite-oxidizing nitrate reducer and arsenate-reducing bacteria were isolated from the lake sediments.

Our results showed that As redox metabolisms are widespread within phylogenetically and physiologically diverse bacteria, including both chemolithotrophic and organotrophic aerobes and anaerobes. This study revealed the diversity of As transformation pathways associated with geographically and geochemically distinct environments and presented the mechanisms behind microbial processes controlling the redox cycling of As.

キーワード: ヒ素, 微生物, ヒ素酸化酵素, ヒ素還元酵素

Keywords: arsenite oxidase, arsenate reductase, microbial arsenic transformation, soil microbiology

## 深海底に存在する酸化鉄皮膜地帯での微生物調査 Biosignature found in iron oxide mineralogy of iron-oxidizing microbe origin?

牧田 寛子<sup>1\*</sup>; 菊池 早希子<sup>2</sup>; 布浦 拓郎<sup>1</sup>; 光延 聖<sup>3</sup>; 平井 美穂<sup>1</sup>; 高木 善弘<sup>1</sup>; 山中 寿朗<sup>4</sup>; 土岐 知弘<sup>5</sup>; 中村 謙太郎<sup>6</sup>; 阿部 真理子<sup>1</sup>; 宮崎 淳一<sup>1</sup>; 野口 拓郎<sup>1</sup>; 渡部 裕美<sup>1</sup>; 高橋 嘉夫<sup>2</sup>; 高井 研<sup>1</sup>  
MAKITA, Hiroko<sup>1\*</sup>; KIKUCHI, Sakiko<sup>2</sup>; NUNOURA, Takuro<sup>1</sup>; MITSUNOBU, Satoshi<sup>3</sup>; HIRAI, Miho<sup>1</sup>; TAKAKI, Yoshihiro<sup>1</sup>; YAMANAKA, Toshiro<sup>4</sup>; TOKI, Tomohiro<sup>5</sup>; NAKAMURA, Kentaro<sup>6</sup>; ABE, Mariko<sup>1</sup>; MIYAZAKI, Junichi<sup>1</sup>; NOGUUCHI, Takuroh<sup>1</sup>; WATANABE, Hiromi<sup>1</sup>; TAKAHASHI, Yoshio<sup>2</sup>; TAKAI, Ken<sup>1</sup>

<sup>1</sup> (独) 海洋研究開発機構, <sup>2</sup> 広島大学, <sup>3</sup> 静岡県立大学, <sup>4</sup> 岡山大学, <sup>5</sup> 琉球大学, <sup>6</sup> 東京大学

<sup>1</sup>JAMSTEC, <sup>2</sup>Hiroshima University, <sup>3</sup>University of Shizuoka, <sup>4</sup>Okayama University, <sup>5</sup>University of the Ryukyus, <sup>6</sup>The University of Tokyo

Recently, many iron mats have been discovered at deep-sea hydrothermal fields in all over the world. It has been thought that microbes, especially iron-oxidizing microbes, are the key players for forming the iron mats. However, there was no direct evidence to this, due to cultivation difficulty of iron oxidizers. Recently, '*Mariprofundus ferrooxidans*' that belong to the Zeta-proteobacteria was successfully isolated. From this isolation, it has been proved that this microbe can oxidize ferrous iron as the electron donor, and can widely be observed in various deep-sea low-temperature hydrothermal fields. Therefore we have investigated how these microbes contributed to the formation of the iron mat using mineralogical and culture independent approaches.

We tried to clarify mineralogical properties of natural or lab-prepared iron oxides of iron-oxidizing microbes by using XAFS, SEM and EDX. Natural samples were collected at 3 sampling sites: iron mats from deep-sea hydrothermal fields in the Mariana Volcanic Arc, Mariana Trough and the Okinawa Trough. Lab-prepared iron-oxide synthesis was carried out using chemoautotrophic bacterium *Mariprofundus ferrooxydans* PV-1 (ATCC BA-1020) and was cultured by diffusion cell's method (Kikuchi et al., 2011, 2014). SEM observation showed similar morphology to all samples, which have distinctive plait-like structure, and at where iron oxides precipitate around distinctive materials. Although each natural iron-oxide sample was precipitated at different environments and with different dominant microbial species within the natural samples, XAFS showed identical spectrum. Regardless of medium employed in the cultivation, lab-prepared iron oxides also showed similar spectrum to natural samples. XANES fitting suggested that iron mats consist of ferrihydrite and iron-organic complex being the same as the lab-prepared iron oxides. These results strongly supported the iron-oxidizing chemolithoautotrophs had significant ecological roles in producing the iron mat. These mineralogical analyses may help to find biosignature in the deep-sea environments.

キーワード: 鉄酸化細菌, バイオシグニチャー, 鉱物学的特徴, 深海, 熱水活動域

Keywords: iron-oxidizing bacteria, Biosignature, Mineralogical property, deep-sea, hydrothermal fields

## 日本海溝横断調査から見えた海溝生命圏の成り立ち The trench biosphere observed from the transect water sampling for the Japan Trench

布浦 拓郎<sup>1\*</sup>; 平井 美穂<sup>1</sup>; 吉田 ゆかり<sup>1</sup>; 西澤 学<sup>1</sup>; 川口 慎介<sup>1</sup>; 牧田 寛子<sup>1</sup>; 宮崎 淳一<sup>1</sup>; 砂村 倫成<sup>2</sup>; 高井 研<sup>1</sup>  
NUNOURA, Takuro<sup>1\*</sup>; HIRAI, Miho<sup>1</sup>; YOSHIDA, Yukari<sup>1</sup>; NISHIZAWA, Manabu<sup>1</sup>; KAWAGUCCI, Shinsuke<sup>1</sup>; MAKITA,  
Hiroko<sup>1</sup>; MIYAZAKI, Junichi<sup>1</sup>; SUNAMURA, Michinari<sup>2</sup>; TAKAI, Ken<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 海洋研究開発機構, <sup>2</sup> 東京大学理学部

<sup>1</sup>JAMSTEC, <sup>2</sup>The Univ. Tokyo

我々は、これまでにマリアナ海溝チャレンジャー海淵内の水塊中微生物相が海溝上に広がる深層水海中の微生物相と著しく異なること、即ち、チャレンジャー海淵には、“海溝生命圏”と呼ぶべき独自の微生物生態系が存在することを明らかにした (Nunoura et al. in preparation)。この水深 10,000m を超えるチャレンジャー海淵は、表層での一次生産に乏しい熱帯の貧栄養水塊下に存在し、また、他の海溝から孤立する特徴を有す。それに対し、日本海溝は、最大水深は 8,000m 程度と比較的浅く、海洋表層での生物生産の大きな豊かな海域に存在し、また、北西太平洋の他の海溝とも連なる地形である。即ち、日本海溝は海溝生命圏の普遍性を検証し、更に海溝生命圏を支える要素を検討するに優れた条件を有していると言える。今回、我々は、東日本大地震後に行われた三度の緊急調査 (MR11-03、YK11-E03、YK11-E04) にて海溝を横断する計 8 地点から採水し、海洋表層から海底までの水柱について微生物生態解析を行なって、海溝生命圏の普遍性、その成り立ちについて検討した。なお、一連の緊急調査においては、斜面崩壊由来の懸濁物に影響された深海水塊微生物相の変動が既に報告されている (Kawagucci et al. 2012)。

キーワード: 日本海溝, 硝化

Keywords: Japan Trench, nitrification

半閉鎖水塊における熱水プルームイオウ酸化独立栄養微生物 SUP05 の炭素、窒素循環への寄与  
SUP05 contribution for Carbon and Nitrogen cycles in semi-closed water mass

砂村 倫成<sup>1\*</sup>; 高木 善弘<sup>2</sup>; 布浦 拓郎<sup>2</sup>; 高井 研<sup>2</sup>  
SUNAMURA, Michinari<sup>1\*</sup>; TAKAKI, Yoshihiro<sup>2</sup>; NUNOURA, Takuro<sup>2</sup>; TAKAI, Ken<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻, <sup>2</sup> 海洋研究開発機構  
<sup>1</sup>Earth & Planet. Science, The University of Tokyo, <sup>2</sup>JAMSTEC

In the deep sea hydrothermal plume, significantly elevated microbial biomass has been reported depending on chemolithoautotrophic activities by hydrothermal reduced chemicals. The potential energetic is sulfur, methane and hydrogen oxidation, and microbial production is up to date. The most important microbes in the plume is SUP05 phylotype (genus Thioglobes), which is known to have sulfur and H<sub>2</sub> oxidation pathway, RubisCO carbon assimilation pathway, and denitrification pathways. In this study, we compared the bicarbonate and inorganic nitrogen species with SUP05 cell densities in the hydrothermal plume of the TOTO caldera hydrothermal field with half-closed water mass system in the Southern Mariana Trough. The cell densities of SUP05 is strong negative correlation with bicarbonate and nitrate, however, the correlation slope indicated the nitrogen assimilation but not the nitrogen respiration (denitrification). Only the nitrogen assimilation occurred in the plume is also supported by the lack of denitrification genes in the plume sample with the metagenomic analysis.

キーワード: イオウ酸化微生物, 熱水プルーム, 窒素同化, ゲノム  
Keywords: Chemolithoautotroph, SUP05, TOTO, metagenomics

「何が、どこに、どれくらいいて、何をしているか」から「それはどのような意味があるか」へ  
From who, where, how many and what to 'Earth science'

加藤 憲二<sup>1\*</sup>  
KENJI, Kato<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 静岡大学大学院理学研究科・地球科学専攻

<sup>1</sup>Department of Geosciences, Graduate School of Science, Shizuoka University

ライトとホビーが放射性ラベルしたグルコースの取り込み速度の測定手法を提案して50年、水圏を対象とした微生物生態学が何を明らかにしてきたのかをごくごくかいつまんで眺め、地球科学としては何が課題かを考えたい。

キーワード: グルコースの取り込み vs. チミジンの取り込み, 生産 vs. 呼吸, ミリ秒 vs. 年  
Keywords: 14C-glucose uptake vs. 3H-Thymidine uptake, Production vs. Respiration, sec vs. year

## 西南日本の付加体深部帯水層における微生物ポテンシャルと物質循環 Microbial potential and carbon cycle in deep aquifer of the accretionary prism of South-west Japan

松下 慎<sup>1\*</sup>; 木村 浩之<sup>1</sup>  
MATSUSHITA, Makoto<sup>1\*</sup>; KIMURA, Hiroyuki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 静岡大学大学院理学研究科地球科学専攻

<sup>1</sup> Department of Geosciences, Graduate School of Science, Shizuoka University

西南日本の太平洋沿岸は「付加体」と呼ばれる厚い堆積層からなる。この堆積層の深部地下圏には嫌気的な地下水が貯留された帯水層が広く分布しており、その深部地下水には大量のメタンが溶存していることが知られている。静岡県中西部に存在する地下 150 m から 1,500 m 掘削された大深度掘削井では、深部地下水とともにメタンを主成分とする付随ガスも検出することができる。静岡県島田市の大深度掘削井において行われた過去の研究では、付加体深部帯水層において微生物群集によるメタン生成が行われていることが明らかにされている。しかし、付加体における広域での微生物学的、地球科学的研究は未だ行われていない。そこで本研究では、静岡県中西部に存在する 14 か所の大深度掘削井から深部地下水と付随ガスを採取し、各種環境データ測定、地球化学分析、微生物の嫌気培養、遺伝子解析を試みた。そして、付加体の深部地下圏における微生物ポテンシャルと物質循環に関する知見を得た。

深部地下水の水温は 24.2 °C から 49.3 °C、pH は弱塩基性であった。酸化還元電位は全ての大深度掘削井で -325 mV から -114 mV の値を示した。電気伝導率は 92 mS m<sup>-1</sup> から 2,110 mS m<sup>-1</sup> と地下水サンプルによって幅広い値を示した。地下水中の NO<sub>3</sub><sup>-</sup> や SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、S<sup>2-</sup> 濃度は検出限界以下であり、溶存有機炭素 (DOC) 濃度は 0.3 mg l<sup>-1</sup> 以下から 50 mg l<sup>-1</sup> と多様であった。付随ガスの分析から、多くのサイトの付随ガスにメタンが 90% 以上含まれていることが明らかとなった。一方、幾つかのサイトではメタン (50-80%) 以外にも窒素ガスが 20% から 50% ほど含まれていた。付随ガスのメタンと地下水の溶存無機炭素 (DIC) の炭素安定同位体比分析により、多くのサイトでの付随ガスに微生物起源のメタンが含まれていることが示唆された。

深部地下水に有機基質を添加した嫌気培養実験の結果、2-3 日以内に水素発生型発酵細菌による水素ガスと二酸化炭素の生成が確認された。さらに、水素発生型発酵細菌と水素資化性メタン生成菌の共生コンソーシアによるメタン生成も培養開始から 3-5 日以内で確認された。

バクテリアの 16S rRNA 遺伝子を対象とした遺伝子解析より、水素発生型発酵細菌が優占していることが明らかとなった。また、付随ガスに 20% から 50% の窒素ガスを含んでいたサイトからは脱窒菌の存在も示された。アーキアの 16S rRNA 遺伝子を対象とした遺伝子解析では、深部地下水中に水素資化性メタン生成菌が優占していることが示された。

一連の研究結果より、広範囲の付加体地下圏において、水素発生型発酵細菌と水素資化性メタン生成菌の共生によって堆積層に含まれる有機物からメタンが生成される炭素循環が存在することが明らかとなった。また、幾つかのサイトではメタン生成に加えて、有機物またはメタンを電子供与体とし、NO<sub>3</sub><sup>-</sup> または NO<sub>2</sub><sup>-</sup> を電子受容体とする脱窒が行われている可能性も示唆された。

キーワード: 付加体, 深部帯水層, メタン生成, 発酵, 微生物共生, 地下環境

Keywords: accretionary prism, deep aquifer, methanogenesis, fermentation, syntrophic biodegradation, subsurface environment

## 地球微生物学が解き明かすメタン循環 The global methane cycle revealed through geomicrobiological analysis

柳川 勝紀<sup>1\*</sup>  
YANAGAWA, Katsunori<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 海洋研究開発機構  
<sup>1</sup>JAMSTEC

Methane is one of the major end products of anaerobic microbial metabolism. Based on stable carbon and hydrogen isotopic compositions of methane, geochemical studies have systematically classified the origin of methane; 1) biological pathways consisting of carbon dioxide reduction coupled to molecular hydrogen oxidation and methyl-type fermentation, and 2) abiological pathways such as thermal degradation of organic matter and Fischer-Tropsch type reaction. In contrast, regarding methane consumption, recent advances in seafloor biosphere research have unveiled the complexity of processes involved in the transformation, migration and fate of methane. Particularly, it has been recognized that marine sediments with high methane flux harbor novel lineages of microorganisms, the physiological traits of which are largely unknown due to their resistance to cultivation. Recent advances in seafloor biosphere research indicate that microbes play much more important roles in methane production and consumption than previously assumed. Though these biogeochemical processes are not fully understood, future combined approach of geochemistry and geomicrobiology will shed light on the global methane cycle on Earth.

キーワード: 海底下生命圏, メタン, メタン生成, 嫌氣的メタン酸化  
Keywords: seafloor biosphere, methane, methanogen, methanotroph

## 蛇紋岩流体中の水素-メタン-水の同位体システムティクス Isotope systematics among H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O in fluid associated with serpentinization

今野 祐多<sup>1\*</sup>  
KONNO, Uta<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 海洋研究開発機構  
<sup>1</sup>JAMSTEC

Serpentinite-hosted hydrothermal systems have attracted considerable attention as sites of abiotic organic synthesis and as habitats for the earliest microbial communities, because hydrothermal fluids derived from ultramafic rocks are characterized by high concentrations of H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub>. During water-rock reactions, Fe (II) in olivine of ultramafic rock is oxidized to Fe (III), which accompanies the reduction of water to yield H<sub>2</sub>. Methane and hydrocarbons are often observed in serpentinite-hosted hydrothermal systems and are thought to be produced from H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> via Fischer-Tropsch-type (FTT) reactions. On the other hand, H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> can be consumed and produced by microorganisms such as methanogens and methanotrophs around the hydrothermal systems. When we collect and analyze samples, those chemical compositions could have been altered due to microbial activities. Therefore, it is very difficult to clarify processes related to H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> around the serpentinite-hosted hydrothermal systems.

Isotopic compositions are useful tool to discriminate origins and reaction pathways of chemical components. As representative controlling factors of isotopic compositions are temperature equilibrium, isotopic compositions of substrate, and isotopic fractionation, the dynamics of isotopic compositions are complicated in natural environments. Therefore, polyphasic aspects, such as hydrological, geological and microbiological interpretations, are needed. However, even complete hydrogen isotopic analysis of H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O from serpentinite-hosted systems and basic laboratory experiments has been reported in only a few studies. As the isotope systematics among H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O in fluid associated with serpentinization remain unexplored, I will present the review of some previous studies and results of explorations of hydrothermal systems at Mid Cayman Ridge during YK13-05 cruise.

キーワード: 蛇紋岩流体, 安定同位体, 水素, メタン  
Keywords: serpentinization, stable isotope, hydrogen, methane

## 下北八戸沖の夾炭層を含む海底下深部堆積物中の酢酸酸化活性 Acetate-oxidation activities in the deep seafloor biosphere associated with coalbeds off the Shimokita Peninsula

井尻 暁<sup>1\*</sup>; 稲垣 史生<sup>1</sup>  
IJIRI, Akira<sup>1\*</sup>; INAGAKI, Fumio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 独立行政法人海洋研究開発機構 高知コア研究所  
<sup>1</sup>JAMSTEC

2012年に統合国際深海掘削計画第337次航海 (IODP, Expedition 337)により下北八戸沖で、海底下約2kmに埋没した未成熟の石炭層に関連する炭化水素循環システムと微生物学的・地球化学的プロセスを明らかにすることを目的として地球深部掘削船「ちきゅう」によりC0020サイトでライザー掘削が行われた。未成熟の石炭(褐炭)はその熟成の過程で、有機酸や炭化水素などの有機物を溶け出させ、それらが微生物の代謝活動を支えていると考えられている。

本研究では掘削された堆積物コア試料(海底下2466m)に、<sup>14</sup>Cトレーサー (sodium [<sup>14</sup>C]-bicarbonate, [2-<sup>14</sup>C]-acetate)を添加し、酢酸開裂型メタン生成活性と酢酸酸化活性を測定した。酢酸開裂型メタン生成活性は、海底下約2kmの褐炭層より浅部で $0.2\text{?}4\text{ pmol cm}^{-3}\text{ d}^{-1}$ であり、最も高い活性は海底下1990mの褐炭層試料で検出された。褐炭層以深では、 $0.1\text{?}0.2\text{ pmol cm}^{-3}\text{ d}^{-1}$ 程度とより低い活性を示した。酢酸のメチル基に<sup>14</sup>Cでラベルした[2-<sup>14</sup>C]-acetateを添加した試料中の<sup>14</sup>C-CO<sub>2</sub>の生成量から見積もられた酢酸酸化活性は、1800 mbsfで最も高く( $150\text{ pmol cm}^{-3}\text{ d}^{-1}$ )、深度の増加と共に低くなり、夾炭層以深では検出限界以下となった。1800 mbsf付近では海緑石が多産することから、この深度での高い酢酸酸化活性には、海緑石に含まれる酸化態の鉄(Fe(III))が電子受容体として寄与している可能性が示唆される。

グルコースを電子供与体としたときの微生物硫酸還元過程で起こる硫黄同位体分別の温度依存性  
Temperature effect of sulfur isotope fractionation by sulfate reducers when used glucose as electron donor

松浦 史宏<sup>1\*</sup>; 上野 雄一郎<sup>1</sup>; 牧田 寛子<sup>2</sup>; 高井 研<sup>2</sup>  
MATSUURA, Fumihiko<sup>1\*</sup>; UENO, Yuichiro<sup>1</sup>; MAKITA, Hiroko<sup>2</sup>; TAKAI, Ken<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東京工業大学, <sup>2</sup> 海洋研究開発機構

<sup>1</sup>Tokyo Institute of Technology, <sup>2</sup>Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

Sulfate reducing microbe (SRM) is responsible for over 50 % of organic carbon remineralization in marine sediments and thus plays a prominent role in sulfur cycle. Based on a large number of culture experiments of SRM, sulfur isotope fractionation by SRM changes depending on environmental factors including temperature, sulfate concentration and availability of electron donor. The isotope fractionation is recorded in sedimentary sulfates and sulfides. Hence, the sulfur isotopic fractionation is useful to reconstruct ancient environmental condition. However, the mechanism controlling the degree of the sulfur isotopic fractionation is still unclear. Particularly, we have to consider the physiology. Previous culture experiments of SRM indicated that the temperature effect varies with species of SRM. However, there is little temperature control experiments using various electron donor with same strain. We carried out temperature control experiments at 25 °C, 30 °C and 37 °C, by sulfate reducing bacteria DSM 642 using glucose as electron donor. Our results revealed growth rate of DSM 642 is fastest at 30 °C, when using glucose as electron donor. Growth rate is the fastest at 37 °C when using lactate as an electron donor. Sulfate reduction rate is thought to primary factor controlling isotope fractionation. In addition, growth rate and sulfate reduction rate have basically positive correlation. Accordingly, the shift of sulfur isotope fractionation by temperature must be changed when used glucose as electron donor. This result indicates that we should pay attention not only sulfate reduction pathway but also oxidation pathway of electron donor. We report temperature dependency of sulfur isotope fractionation by DSM 642 using glucose as electron donor at the first time, to elucidate the mechanism controlling the degree of the sulfur isotopic fractionation during microbial sulfate reduction.

キーワード: 硫黄同位体, 硫酸還元菌

Keywords: sulfur isotope, sulfate reducing bacteria

## 熱アルカリ細胞溶菌法による海底下微生物群集構造解析 A hot-alkaline DNA extraction method for deep seafloor communities

諸野 祐樹<sup>1\*</sup>; 寺田 武志<sup>3</sup>; 星野 辰彦<sup>1</sup>; 稲垣 史生<sup>1</sup>

MORONO, Yuki<sup>1\*</sup>; TERADA, Takeshi<sup>3</sup>; HOSHINO, Tatsuhiko<sup>1</sup>; INAGAKI, Fumio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 海洋研究開発機構 高知コア研究所, <sup>2</sup> 海洋研究開発機構 海底資源研究プロジェクト, <sup>3</sup> マリン・ワーク・ジャパン

<sup>1</sup>Kochi Institute for Core Sample Research, JAMSTEC, <sup>2</sup>Submarine Resources Research Project, JAMSTEC, <sup>3</sup>Marine Works Japan Ltd.

環境試料を用いた分子生態学的解析では、対象とする微生物群集全体から試料となる核酸が抽出されることを前提としている。地球上に存在する微生物の半数以上が生息するとされている海底下の堆積物を対象に市販キットによる核酸抽出を行い、SYBR Green I によって残渣中の微生物濃度を計測したところ、抽出操作によって溶菌する微生物の割合は場合によっては 20% 以下であることが明らかになった。本研究では、環境中に生息する微生物群全体の姿を捉えることを目指し、微生物破碎効率の高率化と核酸抽出手法としての確立を目的とした。地球深部探査船「ちきゅう」などによって採取された海底下堆積物について、アルカリ溶液や市販のキットを含む複数の条件で DNA を抽出したところ、アルカリ溶液を用いた時に 95% を超える溶菌率が得られた。しかし、アルカリ処理による DNA への影響を調べたところ、一本鎖化だけでなく DNA 自体の断片化も引き起こすことが明らかとなった。DNA の断片化を抑えつつ、溶菌率を向上させる条件の検討の後に、それぞれの DNA 抽出物に含まれるバクテリア、アーキアの存在比の測定を行ったところ、溶菌率の違いによって構成種にも違いが見られた。このことから、抽出によるバイアスが実際に微生物群集構造解析の結果に影響を与えていることが示唆された。

キーワード: 海底下生命圏, DNA 抽出, アーキア

Keywords: Seafloor microbial community, DNA extraction, bias, archaea

## アンチモンによる土壌性細菌群集及びヒ素酸化能への影響 Effect of antimony on arsenite oxidation by soil microbial community

片岡 剛文<sup>1\*</sup>; 濱村 奈津子<sup>1</sup>  
KATAOKA, Takafumi<sup>1\*</sup>; HAMAMURA, Natsuko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 愛媛大学沿岸環境科学研究センター

<sup>1</sup> Center for Marine Environmental Studies

Antimony (Sb) and arsenic (As) are naturally occurring toxic elements in the earth's crust, and both elements exist commonly in sympatric environment. The chemical properties and the mode of toxicity of those elements depend on their oxidation states. Although both oxidation states are toxic, trivalent is more toxic than pentavalent chemical form. The microbiological oxidation of As(III) can impact on the geochemical cycling of arsenic in the contaminated environment, and more than 30 phylogenetically diverse As(III)-oxidizing bacterial strains have been isolated. Although natural microbes are exposed to multiple contaminants in situ, the effect of co-contamination on microbial As(III)-oxidation activity is not well understood. To gain insight into the microbial roles in the biogeochemical cycles of As, we evaluated the effect of co-contamination of Sb and As on the microbial community and their As-oxidizing activity by using solid-phase culturing which was inoculated with antimony mine tailing soil (Ichinokawa, Ehime, Japan). As(III) oxidation rates increased exponentially and reached steady state at day-8 in which 0.15 mM As(III) was oxidized to As(V) in 22.9 hrs. The addition of antimonite tartrate (Sb[III]-tar, 0.15 mM) at day-9 inhibited arsenite oxidation, which was then reduced to 40% by day-15. Successional changes in bacterial community compositions were observed after Sb(III)-tar addition by 16S rDNA- and arsenite oxidase gene (*aoA*)-targeted analyses. Total of 69 As(III)-oxidizing strains were isolated from the solid samples obtained before and after the Sb(III)-tar addition, and the Sb(III)-tar tolerance of representative isolates were determined. Various As(III)-oxidizing strains exhibited different levels of Sb(III)-tar tolerance in growth response and As(III)-oxidation rates. These results indicated that the co-contamination of As and Sb affect the community composition and activity of As(III)-oxidizing microbial population reflecting the differences in cellular responses among strains to Sb toxicity.

キーワード: 重金属複合汚染, ヒ素, アンチモン, 固相カラム連続培養, 土壌細菌群集

Keywords: Heavy metal pollution, Arsenic, Antimony, Solid phase advective culturing, Soil bacterial community

## 関東平野南部における地下堆積物中の細菌群集構造 Bacterial community structure in different subsurface sediments of the southern Kanto Plain

大久保 智司<sup>1\*</sup>; 大西 純一<sup>1</sup>; A.K. Azad Muhammad<sup>1</sup>; 須田 互<sup>2</sup>; 斎藤 健志<sup>1</sup>; 斎藤 広隆<sup>3</sup>; 竹村 貴人<sup>4</sup>; 濱本 昌一郎<sup>5</sup>; 小松 登志子<sup>1</sup>

OHKUBO, Satoshi<sup>1\*</sup>; OHNISHI, Jun-ichi<sup>1</sup>; A.K. AZAD, Muhammad<sup>1</sup>; SUDA, Wataru<sup>2</sup>; SAITO, Takeshi<sup>1</sup>; SAITO, Hirota<sup>3</sup>; TAKEMURA, Takato<sup>4</sup>; HAMAMOTO, Shoichiro<sup>5</sup>; KOMATSU, Toshiko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 埼玉大学大学院 理工学研究科, <sup>2</sup> 東京大学大学院 新領域創成科学研究科, <sup>3</sup> 東京農工大学大学院 農学研究院, <sup>4</sup> 日本大学 文理学部, <sup>5</sup> 東京大学大学院 農学研究科, <sup>6</sup>CREST JST

<sup>1</sup>Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, <sup>2</sup>Graduate School of Frontier Science, University of Tokyo, <sup>3</sup>Department of Ecoregion Science, Tokyo University of Agriculture and Technology, <sup>4</sup>College of Humanity and Science, Nihon University, <sup>5</sup>Graduate School of Agriculture, University of Tokyo, <sup>6</sup>CREST, JST

二酸化炭素放出の削減および省エネルギーの必要性から、近年、特に都市部建物において地圏熱利用ヒートポンプシステム (GSHP) の普及が進んでいる。GSHP は冷暖房用恒温熱源として、年間を通して温度がほぼ一定な地下の熱を利用するものである。このような技術の普及に加え、都市部の地下利用やヒートアイランド現象等の影響によって今後地下 (地表から深さ約 100 m まで) の温度環境が変化することが予測される。地下の温度変化が地下地盤や地下水の水質、地下に生息する微生物に影響を与えることは容易に推測されるが、実際に地下の温度変化によって何が起こるのかについては、ほとんどわかっていない。地下の温度変化によって地下の微生物群集がどのように変化するかを明らかにするためには、まず熱の影響を受ける前の群集構造を理解する必要があると考え、本研究では、関東平野南部の異なる 3 地点において、様々な深度のボーリングコア中に存在するバクテリアの群集構造を明らかにすることを目的とした。

日本大学文理学部 (世田谷区)、埼玉大学 (さいたま市)、東京農工大学府中キャンパス (府中市) の各キャンパス内で掘削したボーリングコアについて、10-12 の異なる深度から DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子を対象とした次世代シーケンス解析を行った。その結果、深さ 0-30 m では優占する細菌がサイトによって異なっており、日本大学では Actinobacteria 門、Firmicutes 門が半数以上を占めたのに対し、埼玉大学では Chloroflexi 門、 $\gamma$ -、 $\delta$ -proteobacteria 綱、東京農工大学では  $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -proteobacteria 綱が多く検出された。特に埼玉大学では Chloroflexi 門の中でも Dehalococcoidetes 綱および Anaerolineae 綱と分類される OTU 多く検出され、海成層に特に多く分布していた。一方、30 m 以深では全てのサイトで  $\beta$ -、 $\gamma$ -proteobacteria 綱が優占していた。一部のグループの細菌については、その相対量と深度や間隙水の pH、電気伝導度、堆積物中の粒子径分布との間に相関が見られた。したがって、サイトや深さごとの群集構造の違いは、各サイトの堆積年代、堆積環境と現在の地下環境の違いに起因すると考えられる。本研究で得られた結果をもとに、今後、実際に地下温度変化が起きた場合、細菌の群集構造がどのように変化するかを明らかにしたいと考えている。

キーワード: 地下微生物, 地中熱ヒートポンプ, 次世代シーケンス解析, 細菌群集構造

Keywords: subsurface microorganisms, ground source heat pump, next generation DNA sequencing, bacterial community structures