

水曜海山噴出熱水中微生物の定量的群集解析

Quantitative microbial community analysis of hydrothermal fluids from Suiyou-seamount

砂村 倫成[1], 東 陽介[1], 北村 恵子[1], 山中 寿朗[2], 木村 浩之[3], 内海 真生[4], 岡村 慶[5], 石橋 純一郎[6], 丸山 明彦[1]

Michinari Sunamura[1], Yowsuke Higashi[1], Keiko Kitamura[1], Toshiro Yamanaka[2], Hiroyuki Kimura[3], Motoo Utsumi[4], Kei Okamura[5], Junichiro Ishibashi[6], Akihiko Maruyama[7]

[1] 産総研・生物, [2] 九大院・比文, [3] 広大・院・生物圏, [4] 筑波大・農工, [5] 京大・化研, [6] 九大・理・地惑

[1] AIST-BR, [2] SCS, Kyushu Univ., [3] School of Biosphere Sci., Hiroshima Univ., [4] Inst. of Agric. and Forest Eng., Univ. of Tsukuba, [5] ICR, Kyoto Univ., [6] Dept. Earth & Planet. Sci., Kyushu Univ., [7] AIST-IBRF

水曜海山カルデラ内では活発な熱水活動が観察されており、多くの熱水噴出孔が点在している。熱水の化学成分組成から、様々な点から得られる温度の異なる熱水は単純に海水との希釈により説明される。一方、300 を超えるような熱水中からも、1mL あたり 10^4 細胞以上の微生物が検出されているが（2002 年地球惑星合同大会、丸山ら）、熱水の純度と微生物量の間にはどのような関係があるのか？熱水中の微生物がどのような役割を果たしているのかについてはほとんどわかっていない。そこで、本研究では、水曜海山噴出熱水を対象として、噴出熱水中の微生物群集構造の地理的な分布を、Fluorescent in situ hybridization 法 (FISH) と顕微鏡画像解析手法を用いて明らかにし、熱水孔下微生物圏の解明を目的として研究を行った。

微生物細胞観察用の試料は、しんかい 2000 (NT01-09, NT02-09 次航海) およびはくよう 2000 に取り付けられたハイブリット採水システムを用い、2001 年から 2002 年にかけて、水曜海山の掘削孔や天然熱水噴出孔から、300 以上の高温熱水から 10 以下の低温揺らぎに至るまで、様々な点における熱水を採取した。試料の 100 - 200 mL に、船上にてただちに 38% 中性ホルマリン（終濃度 3.8%）を加え、4 で一晩固定後、PLL-filter に適切な微生物量となるよう濾過し、-80 にて研究室に持ち帰った。船上で濾過できなかった試料は、-80 で冷凍保存し研究室に持ち帰り、適宜解凍、濾過を行った。得られた試料について FISH-DC 法による微生物群集解析を行った。微生物の観察には 100W 水銀ランプを蛍光源として蛍光顕微鏡 (Axio-plan2, Karl Zeiss) を用い、冷却 CCD カメラ (Micromax, Princeton instrument) を用いて微生物画像を取得し、微生物細胞の計数を行った。また、同時にハイブリット採水システムにより、孔径 0.2 マイクロメートルのフィルター上に懸濁体粒子を現場濃縮し、16S rDNA 遺伝子に基づく微生物系統解析試料を採取した。

噴出熱水中には多くの無機鉱物が含まれる。通常用いられる、DAPI などの DNA 染色剤を用いた微生物計数法では、これらの無機鉱物粒子も同時に蛍光を生じるため、対象とする微生物様粒子との判別が困難であった。しかしながら、RNA を標的とした、微生物細胞に特異性の高い FISH 染色を行うことで、微生物の計数は容易に行うことが可能であった。熱水試料中から検出された微生物のほとんどは Bacteria であり、Archaea は少なかった。Bacteria 細胞数は検出限界以下 (1ml あたりおよそ 5×10^3 細胞以下) から 1ml あたり 10^6 細胞までが計数されたが、細胞数と温度やシリカ濃度を指標とした熱水純度との関連性は見いだすことができなかった。試料を採取した場所が異なるため単純には比較できないが、2001 年度に得られた試料に比べ、2002 年度に得られた熱水試料では、微生物数が明らかに増加している傾向が見いだされた。一部の低温熱水中では、カルデラ内熱水ブルーム中微生物のほとんどを占める SUP05 が検出された。また、系統解析の結果からは超好熱性の Bacteria はほとんど検出されなかったことから、熱水の起源となっている高温熱水溜まり中には微生物はほとんど存在せず、噴出熱水中の微生物の多くは、海底面下の砂地やシンカイヒバリガイコロニーなどから流出もしくは巻き込まれていると考えられた。すなわち、微生物組成は噴出熱水に混入した海水の履歴を反映している可能性があり、化学成分と並行して用いることにより、ローカルな熱水や海水の循環系解明に役立つものと推察される。