

岡山県東部におけるアマモ根圏細菌叢

山野井英夫

Heterotrophic Bacteria in Rhizome of Eelgrass *Zostera marina* in the Eastern Parts of Okayama Prefecture

Hideo YAMANOI

キーワード：アマモ，根圏，細菌叢

陸上植物における根圏細菌の存在と特性については既に広く知られている^{1,2)}が、海草であるアマモ *Zostera marina* のそれについては本邦では SHIEH and SIMIZU³⁾ の報告のほか見あたらず、欧米においても FINSTER のグループによる近年の先駆的な幾つかの研究^{4,5)}のほかは比較的少ない。

SHIEH and SIMIZU³⁾ は、神奈川県油壺において7、8および10月にアマモの根圏細菌叢の調査を行い、周辺の泥より細菌数が多かったこと、根圏における優占細菌は泥におけるそれとは異なっていたこと、絶対嫌気性菌は検出されなかったことなどを報告している。

また、近年になって FINSTER らのグループは、アマモと共生する絶対嫌気性菌の存在を明らかにし *Desulfovibrio zosterae* と命名⁴⁾するとともに、アマモ場の海底の硫黄循環におけるその重要性を一連の研究の中で明らかにしつつある^{5,6)}。

今回、アマモと根圏細菌との相互関係を明らかにし、アマモ場復元の一助とするため、岡山県東部の数か所の

アマモ場でアマモ根圏細菌叢の調査を実施したので以下に報告する。

材料および方法

2002年10月から11月にかけて岡山県東部の4か所のアマモ場で、アマモ地下茎を採取した(表1)。牛窓町における3か所のアマモ場では歩行徒手によって干潮時に周囲の泥ごと地下茎を採取し、ビニール袋に収容後、保冷して水産試験場まで輸送した。日生町の大多府ではダイバーによって同様に採取した。

根圏細菌の調査のために用いた希釈水および培地の処方を表2に示した。希釈水は杉田ら⁷⁾の処方どおり調整した。PYBG培地⁷⁾には泥抽出液を添加せず、また入手

表1 アマモ採取場所

場 所	牛窓町 黒 島	牛窓町 水試前	牛窓町 西 脇	日生町 大多府
月 日	10月7日	10月24日	11月8日	10月22日

表2 使用した培地類

培地A		PYBG培地	
Bacteriological Agar (Sigma)	3.0g	Trypticase (Difco)	10.0g
Yeast Extract (Difco)	1.0g	Phytone (Difco)	5.0g
Bacto-Peptone (Difco)	2.0g	Beef Extract (Difco)	2.4g
乳酸ナトリウム	3.5g	Yeast Extact (Difco)	2.0g
K ₂ HPO ₄	0.2g	Glucose	1.0g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.2g	L-Cysteine	0.5g
アスコルビン酸ナトリウム	0.2g	Bacteriological Agar (Sigma)	15.0g
海水	1,000ml	海水	1,000ml
pH7.5		pH7.5	
希釈水			
L-Cysteine · HCl	0.5g		
Bacteriological Agar (Sigma)	1.0g		
海水	1,000ml		
pH7.5			

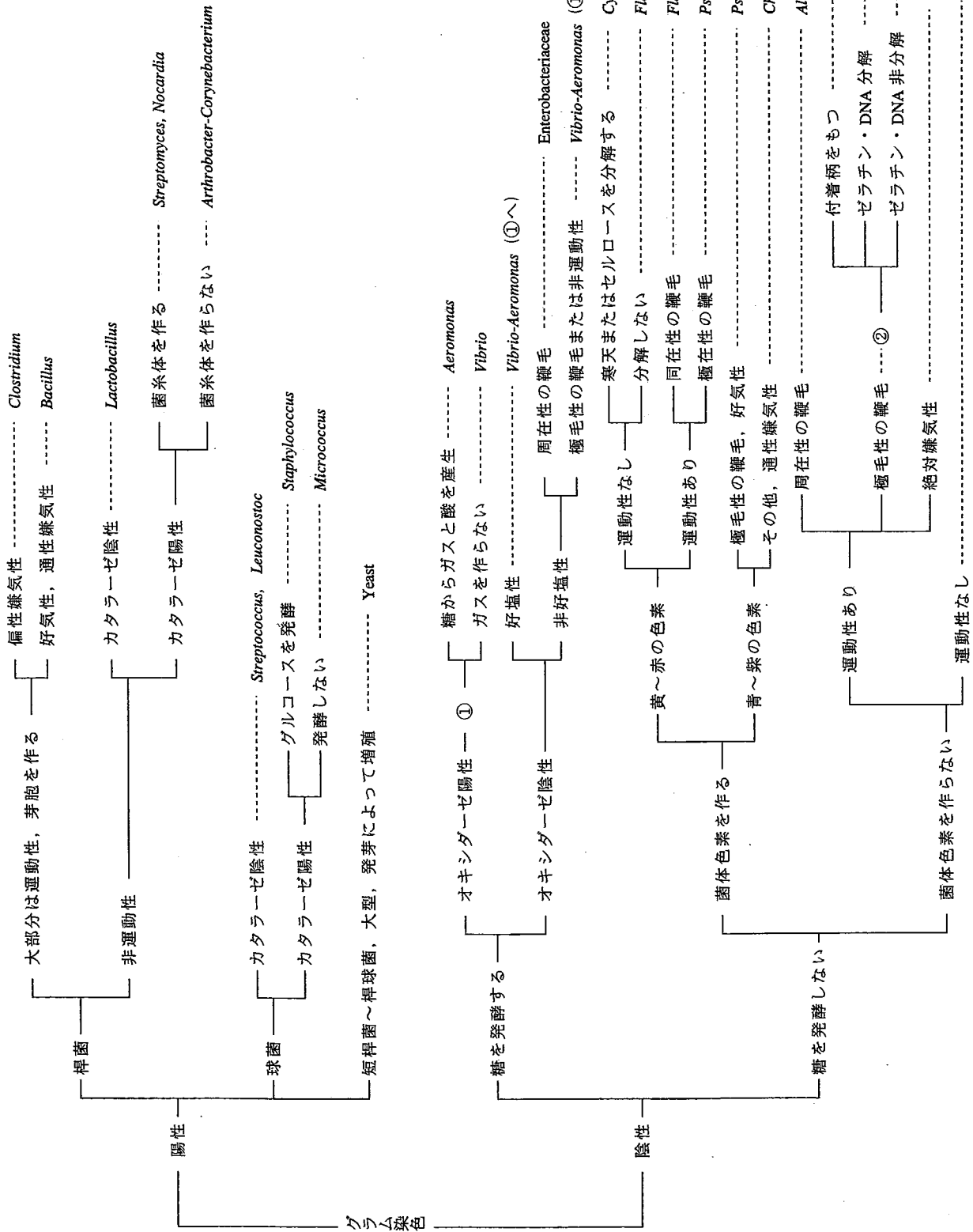


図1 簡易分類表

できなかったのでLab-lemco powder (Oxoid社) に替わってBeef extract (Difco社) を加え、海水を薄めずそのまま使用して改変PYBG培地とし、ペトリ皿に平板とした。培地A⁸⁾には、酵母エキスとしてYeast extract (Difco社) を使用し、ポリペプトンに替わって、同じ混合ペプトンであるBacto-Peptone (Difco社) を用い、高圧滅菌後に濾過滅菌したアスコルビン酸ナトリウム液を添加し、栓付き小試験管に5mlずつ高層として供した。なお、いずれの培地においてもSigma社の寒天Bacteriological agarを用いた。

水産試験場に持ち帰った地下茎から、0.5g前後の根を切り取り、海水中で揺すって見かけ上ほぼ完全に泥を取り去った。次いで濾紙等で軽く水気を取り、秤量した10mlの滅菌希釈水中に投入し2分間強く振盪した。振盪後、根を絞りをながら取り上げ、希釈水を再度秤量し、その増重量を測定した。

また、大多府における地下茎採取時には、アマモ場縁辺部の-10cm層の酸化還元電位を測定するとともに、その泥を滅菌容器に採取して持ち帰り、10mlの滅菌希釈水に1g前後の泥を加えて秤量後2分間強く振盪し、細菌数測定に供した。

なお、酸化還元電位の測定は大多府以外では実施しなかったが、底質はいずれも黒色の還元状態を呈した泥もしくは砂混じりの泥であった。

これら根圏および泥の希釈水を原液として10倍希釈段階を作製し、希釈段階ごとに4枚の改変PYBG培地および5本の培地Aに0.1mlずつ接種した。

改変PYBGの2枚を好気条件で、2枚を嫌気ジャー(アネロパッケンキ・三菱ガス化学KK)を用いた嫌気条件で培養した。約25°Cで1週間培養した後、発育してきたコロニーを計数して、当初の細菌数を算出するとともに、コロニーの外観的特徴からグループ分けを行い、代表的コロニーを釣菌して純粋培養とし、得られた計78株を清水⁹⁾に準拠した簡易分類(図1)に供した。

培地Aは3週間培養した後、黒変した培地の数を計数し、最確法にて検体に含まれる硫酸還元細菌数を求めた。

結果および考察

表3に示したように、大多府のアマモ場の泥の細菌数は改変PYBG培地を用いて行った好気培養、嫌気培養、また培地Aを用いて算出した硫酸還元細菌数のいずれも $10^2 \sim 10^4$ CFU/gであった。表4に示した細菌叢をみると、好気培養では*Acinetobacter-Moraxella* groupが最も優占し、*Arthrobacter-Corynebacterium* groupが次いだ。嫌気培養では同定不能菌に次いで*Aeromonas* groupと*Lactobacillus* groupが優占した。この時の酸化還元電位は-370mVであった。

一方、アマモ根圏の細菌数は、いずれの検体も $10^6 \sim 10^7$ CFU/gに達し、大多府の泥で得られた値より3桁前後も高かった。細菌叢は検体によって差があり、黒島のアマモ根圏は好気培養、嫌気培養とも*Aeromonas* groupが優占していたが、他の3か所では*Acinetobacter-Moraxella* groupが優占することが多かった。また、黒島、大多府のアマモ根圏からは絶対嫌気性菌である*Desulfovibrio* groupが割合は比較的少ないながらも検出された。

SHIEH and SIMIZUは、泥の好気培養では7および8月に*Acinetobacter-Moraxella* groupが優占していた一方で、根の洗浄液の好気培養では泥中に見られなかった*Aeromonas* groupの割合が13.1~31.8%あったことを述べている。また嫌気培養した根の洗浄液中では*Aeromonas* groupが常に82.6~95.8%と圧倒的に優占していたことも報告している。今回の結果と比較すると、黒島のアマモの場合は似た結果となっているが、他の3か所では好気培養、嫌気培養とも*Aeromonas* groupが優占することはなかった。

硫酸還元細菌数は、培地Aを用いた最確法によっていずれの根圏においても 10^6 /gと算出された。別途行った試験によると、PYBG培地でも検出された絶対嫌気性菌*Desulfovibrio* groupが培地Aを黒変させたことから、この値は*Desulfovibrio* groupを含むものと推定されたが、割合等については不明であった。絶対嫌気性菌は検出されなかったと報告したSHIEH and SIMIZUは、培地Aのよう

表3 アマモ根圏と泥の細菌数

場 所 材 料	黒島 根圏	水試前 根圏	西脇 根圏	大多府	
				根圏	泥
好気培養 (CFU/g)	8.5×10^6	1.4×10^7	4.8×10^7	2.6×10^7	2.1×10^4
嫌気培養 (CFU/g)	1.7×10^7	5.9×10^6	5.4×10^6	2.1×10^7	4.0×10^4
硫酸還元細菌 (MPN/g)	1.6×10^6	2.2×10^6	1.9×10^6	1.7×10^6	9.8×10^2

表4 アマモ場における泥と根圏の細菌組成 (%)

場 所 材 料	黒島	水試前	西脇	大多府	
	根圏	根圏	根圏	根圏	泥
好気性培養					
<i>Bacillus</i>					10
<i>Vibrio</i>		40	5		20
<i>Aeromonas</i>	99			22	
<i>Acinetobacter-Moraxella</i>		60	89	57	40
<i>Arthrobacter-Corynebacterium</i>				19	30
Unidentified	1		6		
嫌気性培養					
<i>Vibrio</i>		33			
<i>Aeromonas</i>	75	17	5		25
<i>Acinetobacter-Moraxella</i>	18	50	90	17	
<i>Desulfovibrio</i>	6			33	
<i>Lactobacillus</i>					25
Unidentified			5	50	50

な高い嫌気度の培地を用いた測定を行っていない。いずれにしても、硫酸還元細菌数が、好気培養および嫌気培養によって得られた細菌数とほぼ同じレベルに達していたことから、アマモ根圏において硫酸還元細菌が何らかの重要な役割を果たしているものと推察された。

文 献

1) 境 雅夫・太田寛行・大友 量・岡野正豪, 1999: 土壤生

物, 日本土壤肥科学雑誌, 70, 627-635.

2) 高橋英一, 1994: 「根」物語, 研成社, 156pp.

3) W. Y. SHIEH and U. SIMIZU, 1986: Heterotrophic bacteria associated with eelgrass *Zostera marina* rhizosphere and their antibacterial activity, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 52, 2143-2147.

4) K. FINSTER and F. BAK, 1993: Complete oxidation of propionate, valerate, succinate, and other organic compounds by newly isolated types of marine, anaerobic, mesophilic, Gram-negative, sulfur-reducing eubacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 1452-1460.

5) V. BLAABJERG and K. FINSTER, 1998: Sulphate reduction associated with roots and rhizomes of the marine macrophyte *Zostera marina*, *Aquat. Microb. Ecol.*, 15, 311-314.

6) J. T. NIELSEN, W. LIESACK and K. FINSTER, 1999: *Desulfovibrio zosterae* sp. nov., a new sulfate reducer isolated from surface-sterilized roots of seagrass *Zostera marina*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 49, 859-865.

7) 杉田治男・店網秀男・小橋二夫・出口吉昭, 1981: 沿岸二枚貝の細菌相, 日水誌, 47, 655-661.

8) 畑 幸彦, 1985: 硫酸還元細菌および無色硫黄細菌, 海洋微生物研究法, 学会出版センター, 117-127.

9) 清水 潮, 1985: 海洋細菌の同定, 海洋微生物研究法, 学会出版センター, 228-233.