海洋中の無機態窒素化合物利用微生物 に関する研究—Ⅲ.

底土中の微生物の代謝活性について*

木俣 正夫・吉田 陽一

(1968 年 10 月 30 日受理)

Studies on the Marine Bacteria Utilizing Inorganic Nitrogen Compounds—III. On the Bacterial Activities in Bottom Muds

Masao KIMATA and Yoichi YOSHIDA**

1) The bacterial activities in bottom muds collected in Maizuru Bay were examined, the methods to estimate such bacterial activities as ammonification, nitrification, nitrate reduction and nitrate assimilation being clarified.

2) Under the condition of the present experiment, the activities of ammonification and nitrification of the bacteria in bottom muds were estimated comparatively to be high, i. e. $0.2 \sim 4 \mu\text{g at. N/50 g/4hr}$, although the activities of nitrate reduction and nitrate assimilation of them were done comparatively to be low, i. e. $0 \sim 1 \mu\text{g at. N/50 g/4hr}$.

これまでの調査の結果¹⁻⁶⁾, 窒素の循環に関与する細菌として, 海洋には有機物からアンモニアを発生する普通の従属栄養細菌の外, 種々の硝酸化成細菌, 脱窒細菌, 無機態窒素化合物同化従属栄養細菌など無機態窒素化合物を利用する細菌が存在することは明らかである。このことから海洋における窒素の循環は, Fig. 1 に示すように, かなり複雑にからみ合っていることが推察される。

したがって, 種々の細菌が海洋中において果している役割を明らかにするためには, 単にこれらの細菌の分布をしらべるばかりでなく, 海洋中におけるこれら細菌の窒素化合物代謝活性を測定することが肝要である。ところが, このような細菌の活性をしらべた研究は, 著者らが循環式海水魚飼育水槽中の硝酸化成細菌についてしらべた^{7,8)} 以外は, ほとんどみられべきものはない。

本報では, これらの細菌の代謝活性を測定する方法の一つとして, 他種の細菌の代謝活性を抑制して, 特定の細菌の代謝活性のみを測定する一連の代謝活性測定法を考案し, さらに, これらの方法を用いて, 二, 三の底土試料について代謝活性を測定した結果

Fig. 1. Scheme on nitrogen cycle in sea.
—: converted by bacterial function.
....: converted by the function of the other organisms.

* 本研究の一部は文部省科学研究費によった。

** 京都大学農学部水産学教室 (Dept. Fish., Fac. Agr., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

を報告する。

方 法

底土の採取： 著者らがさきに考案した採泥器⁹⁾を用いて海底底土を採取し、その表層底土(0~1 cm 層)を供試泥として用いた。

底土中の細菌の活性の測定： 底土 1.25 g を 25 ml の海水(無機態窒素化合物をほとんど含まない外洋海水)に懸濁し、この懸濁液中の particulate matter を遠心分離処理により海水で 3 回洗浄した後、100 ml 容の三角フラスコ内の海水中に懸濁させる。つぎに、この懸濁液に、基質やトルエンなどを Table 1 に示した濃度になるように添加し、合計 25 ml の反応液とする。この液を 25°C で 4 時間反応させた後、反応液中の無機態窒素化合物含量を測定し、対照(奇数番号の反応液)で得られた値との差から、細菌の代謝活性を算出する。

無機態窒素化合物の測定： 亜硝酸はグリース・ロミン試薬を用いる常法により、またアンモニアおよび硝酸は細菌を用いる微量定量法^{10,11)}による。

Table 1. Concentration of ingredient in the reaction mixtures to determine bacterial activity.

Reaction mixture Ingredient	Ammonification		Nitrification		Nitrate reduction		Nitrate assimilation	
	1*	2	3*	4	5*	6	7*	8
Na-glutamate (μ M)	—	100	—	—	—	—	—	—
NH ₄ Cl (μ M)	—	—	100	100	—	—	—	—
KNO ₃ (μ M)	—	—	—	—	10	10	10	10
Na-acetate (%)	—	—	—	—	—	0.1	—	—
Glucose (%)	—	—	—	—	—	—	—	0.1
KH ₂ PO ₄ (%)	—	—	—	—	—	—	—	0.01
Toluene (%)	—	—	0.1	—	0.1	0.1	—	—

* Odd number....control.

3....nitrification is inhibited by the addition of toluene.

5....nitrate reduction is inhibited by the lack of Na-acetate.

7....nitrate assimilation is inhibited by the lack of glucose and KH₂PO₄.

結果および考察

舞鶴湾内に設定した定点⁵⁾のうち、A, B, C, および D の 4 定点で採取した二、三の底土試料について示した結果を Table 2 に示す。細菌のアンモニア化作用および硝酸化作用の活性は、底土 50 g 当り、数~数分の 1 μ g at. N/4hr 程度みられるが、硝酸還元作用および硝酸同化作用の活性は非常に弱く、数分の 1 μ g at. N/4hr 前後かそれ以下である。

なお、本実験の条件下では硝酸同化作用の活性を測定する場合、硝酸の同化の外に一部硝酸の還元も起こることが推察されたが、実験の結果でも微量ではあるが亜硝酸の生成する場合がみいだされた。

著者らはさきに^{3,4,7)}、循環式海水魚飼育水槽の汚過砂における硝酸化成細菌の硝酸化成活性は砂 50 g 当り数 μ g at. N/4hr であることを指摘しているので、海底土中の同細菌の活性は、汚過砂中のそれに比し、同程度か幾分低いことがわかる。

なお、本実験は底土試料を希釈、洗浄および基質や阻害剤の添加などの外、温度、酸化還元電位などについて、自然状態とはかなり異なつた条件下で行なわれたため、ここに得られた値が自然状態でも同様にみら

Table 2. Activities of microorganisms in the bottom muds collected in Maizuru Bay.

Date	Station	Activities of microorganisms in bottom muds ($\mu\text{g at. N/50 g/4hr}$)					
		Ammonifi- cation	Nitrification		Nitrate reduction		Nitrate assimilation
		Glutamate $\rightarrow \text{NH}_3$	$\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2$	$\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_3$	$\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$	$\text{NO}_3 \rightarrow$ NH_3, N_2	$\text{NO}_3 \rightarrow \text{Cell}$ (NO_2)
1966, Nov. 7	A	—	0.1	3.4	—	—	— (—)
"	B	—	0.2	0.8	—	—	— (—)
"	C	—	0.1>	1.0	—	—	— (—)
Dec. 6	A	—	0.1	2.1	—	—	— (—)
"	B	—	0.1>	2.0	1.0	0.1	0.1> (0.6)
"	C	—	0.1	2.8	—	—	— (—)
1967, Jan. 12	B	—	0.2	0.6	0.2	0.4	0.2 (0.1)
"	D	—	0.3	3.9	—	—	— (—)
Feb. 20	B	—	0.2	1.2	0.1>	0.1>	0.8 (0.1)
"	D	—	0.1>	1.5	—	—	— (—)
Mar. 14	D	4.4	0.1	1.3	0.1>	0.1	0.9 (0.1)
Aug. 9	B	2.1	0.6	3.3	0.1>	0.5	0.3 (0.1>)
Sept. 21	A	2.4	0.1	0.3	0.1>	0.0	0.2 (0.1>)
1968, July 26	B	0.2	0.4	2.0	—	—	— (—)
"	D	0.3	0.5	1.8	—	—	— (—)

れるか否かは疑問である。しかし、このような活性は、同一作用に関する限り、同様な環境条件下における底土試料の活性を比較する場合の指標の一つになりうるであろう。

摘 要

1) 底土中の細菌の無機態窒素化合物の代謝活性の測定法を考案し、さらにこれらの方法を用いて二、三の底土試料中の細菌の代謝活性を測定した。

2) 底土中の細菌の代謝活性は、本実験の条件下では、底土 50 g 当り、数 $\mu\text{g at. N/4hr}$ 前後かそれ以下であつた。また、これらの細菌の代謝活性のうち、アンモニア化および硝酸化の活性は比較的顕著に認められるが、硝酸還元や硝酸同化の活性は比較的微弱であつた。

文 献

- 1) 木俣正夫・河合 章・吉田陽一： 本誌，**29**，1027~1030 (1963).
- 2) 吉田陽一・木俣正夫： 本誌，**33**，578~585 (1967).
- 3) Y. YOSHIDA: *Bull. Misaki Marine Biol. Inst. Kyoto Univ.*, No. 11, 1~58 (1967).
- 4) A. KAWAI, Y. YOSHIDA and M. KIMATA: *Bull. Misaki Marine Biol. Inst. Kyoto Univ.* No. 12, 181~194 (1968).
- 5) 木俣正夫・吉田陽一・谷口道子： 本誌，**34**，1114~1117 (1968).
- 6) 木俣正夫・吉田陽一・谷口道子： 本誌，**35**，211~214 (1969).
- 7) 河合 章・吉田陽一・木俣正夫： 本誌，**30**，55~62 (1964).
- 8) 河合 章・吉田陽一・木俣正夫： 本誌，**31**，65~71 (1965).
- 9) 木俣正夫・河合 章・石田祐三郎： 本誌，**26**，1227~1230 (1960).
- 10) 吉田陽一： 本誌，**33**，343~347 (1967).
- 11) 吉田陽一： 本誌，**33**，348~350 (1967).