

# 釧路湿原赤沼の溶存有機物質の分解に対する 微生物と紫外線の影響 (予報)

千賀 有希子\* 照井 滋 晴\*\*  
野原 精一\*\*\* 渡辺 泰 徳\*

キーワード：溶存態有機物 (DOC)、微生物分解、紫外線、有機物分解、腐植物質

## 1. はじめに

従来、水中における食物連鎖は、植物プランクトン動物プランクトン 魚と連結する生食連鎖が重要視されていたが、現在では溶存有機物 細菌 原生動物を経て動物プランクトンにつながる微生物食物連鎖が重要であるとの認識が一般的となっている (Watanabe 1975 ; Azam et al. 1983 ; 渡辺1990)。さらに近年、植物プランクトンに寄生するツボカビ (鏡味 2008) や感染するウイルス (Fuhrman 1999 ; Thingstad 2000) が食物連鎖に重要な役割を果たしていることも知られてきている。

水中に浮遊する細菌の大部分は従属栄養性で、成長の基質として溶存有機物 (DOM) を利用しており、DOM を分解することによって成長する。海洋や湖沼の溶存有機物は一般に低濃度で、また有機汚染を受けていない場合は従属栄養微生物による分解性が低いとされ、基質として好適なのは、植物プランクトンの細胞外排出物や動物プランクトンの摂食・消化過程に係る比較的易分解性の有機物が想定されており (渡辺 1990)、その分解過程についても明らかになりつつある。しかしながら、DOM 濃度が常に高い湿原の腐植湖沼中では、細菌の生産が DOM に依存していると推察はされているものの、その分解過程の研究は多くない。一方、水中の腐植物質は太陽光の紫外線によって光分解することが知られている (Wetzel et al. 1995 ; 山田 2000)。この過程が、難分解性の溶存有機物を細菌に利用可能な基質に変換している可能性も指摘されているが、まだ十分な解析が行われていない。

腐植の微生物分解の過程に細菌が大きく関わっているとすると、細菌の増殖を決定する DOM の量および質を明らかにすることは腐植湖沼の微生物食物連鎖を解明

する上で不可欠である。本研究では、釧路湿原に位置する腐植湖沼である赤沼を対象として、DOM に対する微生物および紫外線の分解性の関係を予想的に調べた。実験 I においては、微生物の呼吸による赤沼湖水中の DOM 分解の程度を知るために湖水を培養し、DO の減少を追った。DO の減少量から、微生物によって分解された炭素量を見積もった。実験 II では、紫外線による分解の程度を知るために湖水を人工ランプによって UVB 照射し、溶存有機炭素 (DOC) 濃度の経時変化を測定した。UVB は太陽紫外線の一部で生物学的および化学的影響が高い短波長域 (280 ~ 320 nm) である。実験 III では、光条件による分解の程度および細菌への影響を知るために、湖水を UVB 照射、太陽光露光および暗条件に曝し、DOC 濃度と生菌数、全菌数の経時変化を測定した。さらに、光条件によって分解する腐植物質の質を明らかにするために、それぞれの光条件に曝した後の湖水の 3 次元蛍光スペクトルの測定を行った。

## 2. 方法

### 2-1. サンプリング

釧路湿原内に位置する赤沼 (図 1) の表層水を水試料として用いた。赤沼は、主にミズゴケからなる高層湿原内にあり、面積約10ha、平均水深1.9m の浅い腐植湖沼である。表層水の DOC 濃度は、年間通して約15mgC l<sup>-1</sup> と非常に高い。湖水は湖岸から手でポリビンに採水した。採取後は、冷蔵して実験室に運び各種の実験に供した。

### 2-2. 実験条件

#### 2-2-1. 実験 I

6月に採水した赤沼の湖水を、DO が飽和となるようにエアレーションし、100ml の酸素ビンに分取した。密

\* 立正大学地球環境科学部環境システム学科

\*\* NPO 法人環境把握推進ネットワーク PEG

\*\*\* 国立環境研究所アジア自然共生研究グループ

2009年度立正大学大学院地球環境科学研究科オープンリサーチセンター業績

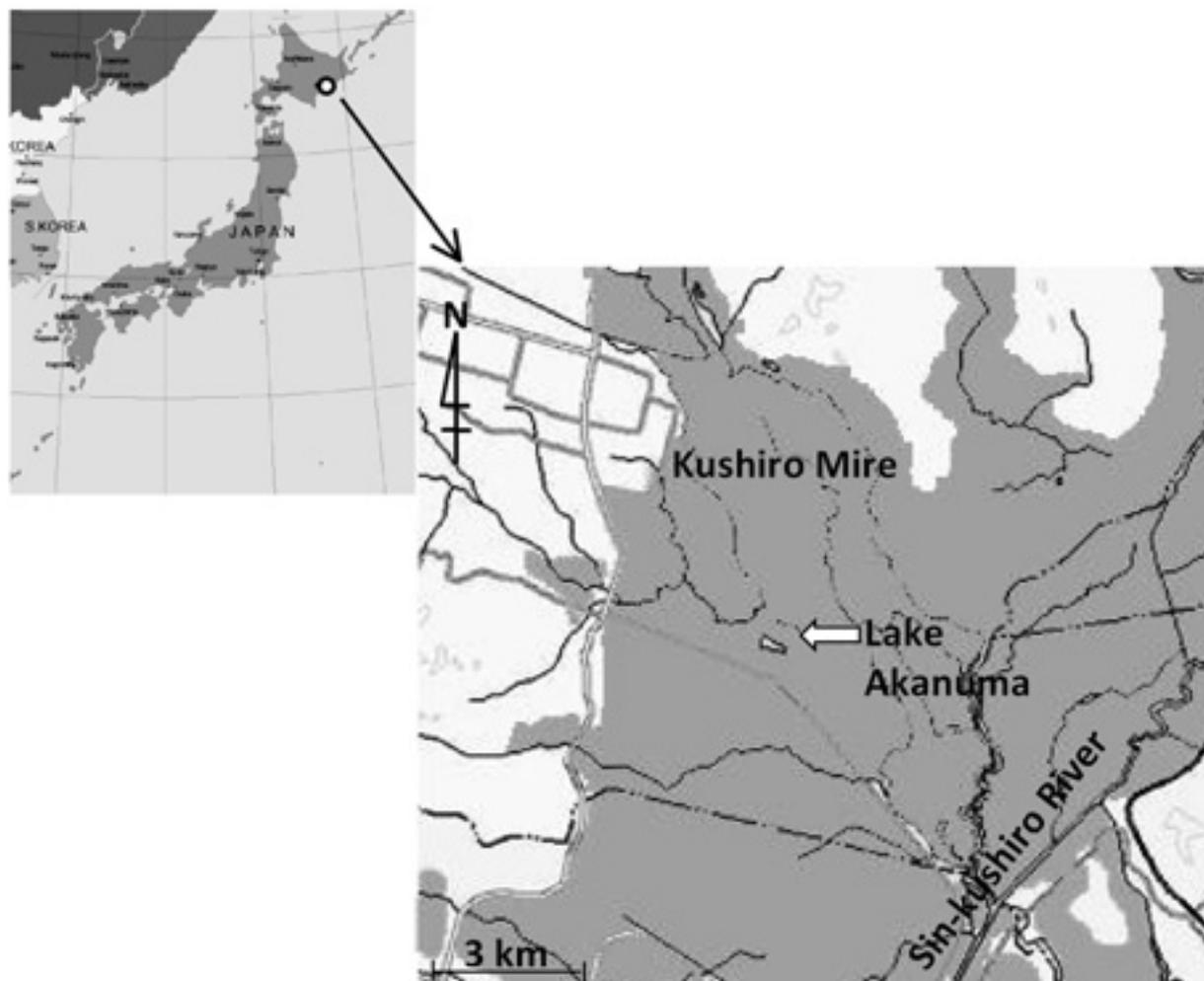


図1. 釧路湿原における赤沼

閉後、暗条件下、20℃で培養し、0日目、5日目および25日目にDOの測定を行った。消費されたDOから微生物によって分解される炭素量を算出した。

#### 2-2-2. 実験II

5月に採水した赤沼の湖水を50mlの石英ガラス管に分取し、蛍光管方式のUVBランプ(Toshiba, FL20S・BLB.)の照射を15日間行った。時間を追ってDOC濃度の減少を測定した。繰り返しは、2回とした。

#### 2-2-3. 実験III

5月に採水した赤沼の湖水を50mlの石英ガラス管に分取し、UVB照射、太陽光露光および暗条件と3つのサンプルを調製した。UVB照射は、UVBランプを用いて行った。太陽光露光は、野外にて静置し自然太陽光を当てた。暗条件は、アルミホイルで石英ガラス管を巻き、野外に放置した。太陽光露光と暗条件は、野外で高温にならないように、石英ガラス管半分が水に浸かるようにし、水を常時流した。それぞれ繰り返しは、2回とした。これらのサンプル中のDOC濃度、生菌数および

全菌数の測定を0日目(実験開始時)と5日目に行った。

#### 2-2-4. 実験IV

DOC濃度の濃い湖水をつくるために、7月に採水した赤沼の湖水を真空エバポレータによって35℃で濃縮を行った。濃縮水を50mlの石英ガラス管に分取し、UVB照射、太陽光露光、UVカットおよび暗条件と4つのサンプルを調製した。UVB照射、太陽光露光および暗条件の調整は前述した通りに行った。UVカットは、<400nmのUVをカットする透明シートを石英ガラス管に巻き、野外で半分水に浸しながら静置して行った。4つのサンプルの繰り返しは、2回とした。これらのサンプル中のDOC濃度、生菌数および腐植物質の蛍光強度の測定を0日目(実験開始時)と11日目に行った。

#### 2-3. 測定

BODは、容積が正確に分かっているDOピンにサンプルを入れ、20℃で5日間培養し消費されたDO値とした。DOは、蛍光式酸素計(HQ3d, HACH)で測定した。DOC濃度は、TOC計(TOC-5000A,

Shimadzu) で測定した。腐植物質の蛍光強度は、蛍光分光光度 (FP-6200、日本分光株式会社) を用いて測定した。生菌数は、標準寒天培地 (日水製薬株式会社) を用い、25℃、暗条件下で2週間培養し、出現したコロニーを観察後、計数した。全菌数は、グルタルアルデヒドを2%添加し生物を固定した後、DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) で染色し蛍光顕微鏡下で観察し計数した。それぞれの測定値は、2回のサンプルの繰り返しの平均値を示したものである。

### 3. 結果および考察

赤沼の表層水中の DOC の濃度は常に高く、どの月も約15mgC l<sup>-1</sup>存在していた (data not shown)。以下の実験に用いた DOC 濃度はほとんど同じで、質的にも変化がないものと仮定した。

#### 3-1. 実験 I

DO は時間とともにゆっくり減少していき、5日目には約14%、25日目には約35%が消費された (図1、表1)。呼吸商が1.0と仮定して、酸素消費量から呼吸で無機化された炭素量を見積もった (表1)。0日目の時の DOC が15.0mgC l<sup>-1</sup>であったので、5日目の DOC は約3%、25日目は約7%が微生物の呼吸で消費されたことが解った。

#### 3-2. 実験 II

UVB 照射によって、赤沼湖水中の DOC 濃度は時間とともに減少した (図3)。0日目の DOC 濃度の約30%が15日間で減少した。この値は実験 I における微生物の呼吸による DOC 分解量よりも高く、UVB の照射は DOC の分解を促進することが解った。しかし、この分解には UVB による直接的な光化学的分解と微生物による分解の両過程が含まれることが考えられ、それらの相対的寄与は本実験では明らかにできない。

#### 3-3. 実験 III

UVB 照射、太陽光露光および暗条件の3つのサンプル中の DOC 濃度は5日目に減少し、UVB 照射のサンプルの減少が最も大きかった (表2)。生菌数は、0日目と比べると UVB 照射は減少し、太陽光露光は約2倍増加し、暗条件は約12倍と大きく増加した。全菌数は、UVB 照射で僅かに増加し、太陽光露光および暗条件で約2倍に増加していた。これらの結果は、微生物が UVB 照射により増殖が抑制されることを示している。したがって、UVB 照射による DOC 濃度の減少は、ほとんどが紫外線による光分解である可能性が高い。

表1. O<sub>2</sub>の消費量および推定される DOC 減少量

時間 (日)	O <sub>2</sub> (mgO <sub>2</sub> l <sup>-1</sup> )	DOC (mgCl <sup>-1</sup> )*
5	1.2	0.5
25	2.9	1.1

\*但し、RQ (呼吸商) = 1.0とした時

表2. DOC 濃度、生菌数および全菌数の変化

サンプル	DOC	生菌数	全菌数
	(mgC l <sup>-1</sup> )	(cfu ml <sup>-1</sup> )	(cells ml <sup>-1</sup> )
0日目	14.9	4.2 × 10 <sup>4</sup>	0.9 × 10 <sup>6</sup>
5日目			
UVB 照射	13.5	7.3 × 10 <sup>3</sup>	1.3 × 10 <sup>6</sup>
太陽光露光	14.1	9.0 × 10 <sup>4</sup>	1.7 × 10 <sup>6</sup>
暗条件	14.8	4.9 × 10 <sup>5</sup>	2.3 × 10 <sup>6</sup>

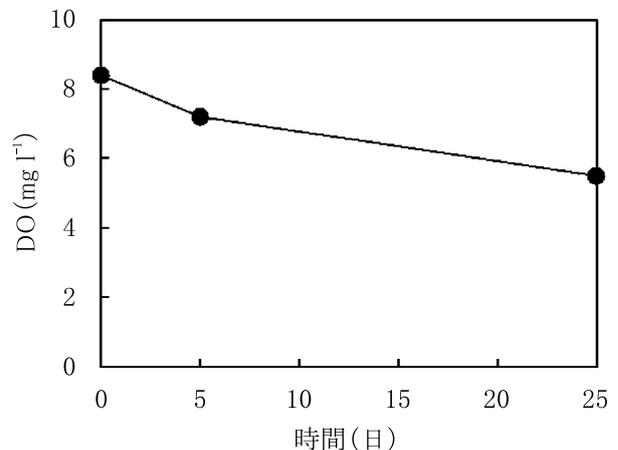


図2. DO の経時変化

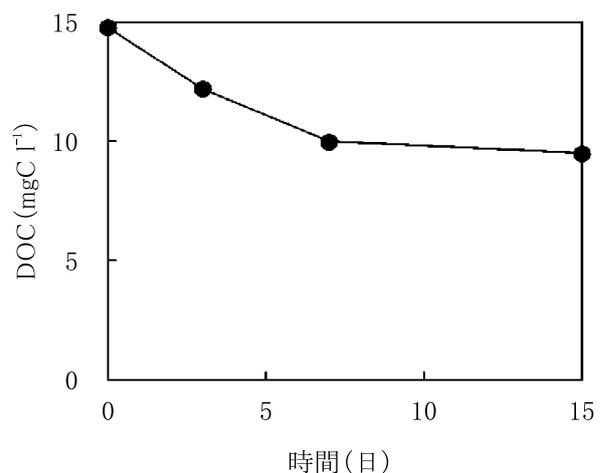


図3. DOC 濃度の経時変化

### 3 - 4 . 実験IV

濃縮湖水を用いた実験において、UVB 照射と太陽光露光の DOC 濃度は、UV カットと暗条件と比べると大きく減少した (表 3)。この結果から、DOC の消費は微生物のみによる場合より光を照射したものの方が大きいと考えられた。4 つのサンプル中の生菌数は、11日目で増加した。11日目の暗条件のコロニーは、白いコロニーが優占していた (図 4)。太陽光露光、UV カットにおいても白いコロニーが優先していたが、黄色いコロニーの出現も確認された。一方、UVB 照射のコロニーは、白いコロニーの他に赤いコロニーが多く出現した。光条件によって出現するコロニーは違っていた。分子生物学的手法を用いた解析では、白いコロニーは *Acinetobacter* sp. や *Pseudomonas* sp. など一般的な土壌で見られるような属が多く、黄色いコロニーは鉄還元細菌である *Sphingomonas* sp. が同定された (data not shown)。また UVB 照射で観られた赤いコロニーは紫外線や 線照射に強い抵抗性を示す *Deinococcus* sp. の可能性が示唆された (data not shown)。分解に寄与する細菌群の同定は今後さらに研究する必要がある。

励起波長375nm および蛍光波長483nm 付近に検出された腐植物質の蛍光強度は、全てのサンプルで11日目に

表 3 . DOC 濃度、生菌数および腐植様物質の蛍光強度の変化

サンプル	DOC	生菌数	腐植様物質
	(mgC l <sup>-1</sup> )	(cfu ml <sup>-1</sup> )	蛍光強度*
0 日目	152	2.8 × 10 <sup>4</sup>	38.2
11日目			
UVB 照射	127	3.8 × 10 <sup>4</sup>	31.1
太陽光露光	128	5.5 × 10 <sup>4</sup>	26.9
UV カット	134	3.6 × 10 <sup>4</sup>	34.7
暗条件	134	4.8 × 10 <sup>4</sup>	35.3

\* : 励起波長/蛍光波長 = 375/483nm 付近

は減少していたが、UVB 照射と太陽光露光では大きな減少が観られた (表 3)。特に太陽光露光の蛍光強度は著しく減少しており、腐植物質の分解には、紫外線以外の光の分解作用も重要であると推察された。しかしながら、紫外線以外の光条件である UV カットの蛍光強度の減少は、UVB 照射および太陽光露光に比べると小さかった。太陽光には紫外線、可視光および赤外線が含まれる。それらの光の相乗効果によって腐植物質の分解が促進された可能性がある。また、太陽光露光では生菌数の増加がみられていることから、光と微生物の両方の分解が進んだとも考えられた。今後、詳細に DOM の光分解過程について検討していく予定である。暗条件における蛍光強度の減少は、最も低かった。これは、腐植物質の微生物による分解が、光分解よりも小さいことを示している。一般的に細菌は高分子で構成される腐植物質の分解は苦手とされる (Bridgham and Richardson 2003)。DOM 濃度が常に高い湿原の腐植湖沼では、DOM 分解に対する微生物の寄与はそれほど大きくない可能性が示唆された。

### 4 . まとめ

本研究では、腐植湖沼赤沼の DOM の分解に対する微生物および光の影響を検証した。赤沼の DOM は、微生物によっても、光によっても分解し得ることが解った。DOC の減少量から、紫外線の照射が最も DOM 分解を促進することが解った。しかしながら、腐植物質の分解には、紫外線のみ照射よりも太陽光の方が大きく寄与していた。また、光の条件によって優占する細菌が異なることが解った。今後はこれらのデータをもとに、より詳細に DOM の分解に対する微生物および光の影響を明らかにしていく予定である。DOM は細菌の増殖を決定し、結果として水域の微生物食物連鎖過程を左右

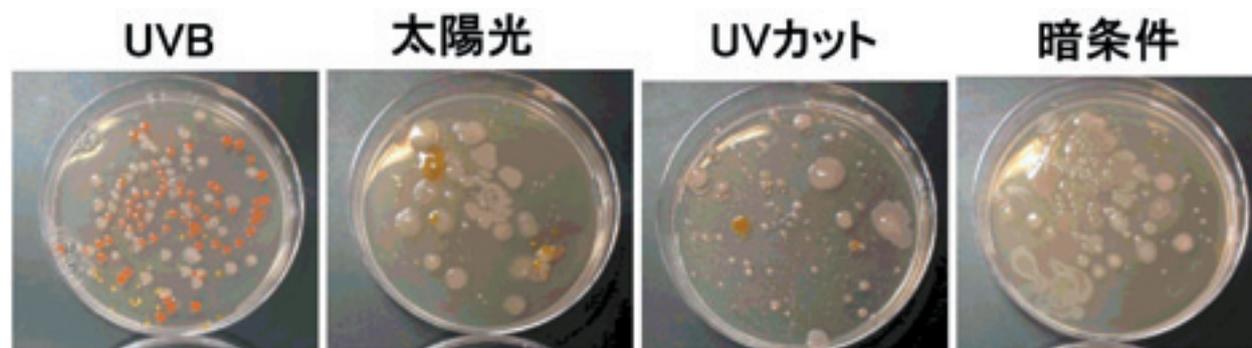


図 4 . 標準寒天培地上の好気性細菌のコロニー

する重要なファクターである。近年、オゾン層の破壊により地上に到達する紫外線が増える中で、湖沼の DOM の量と質の研究は湖沼生態系を保全する意味から重要であると考えられる。

#### 謝辞

本研究は、文部科学省私立大学学術研究高度化推進事業オープンリサーチセンター整備事業（研究代表者：高村 弘毅）、環境省地球環境保全等試験研究費「湿原流域の変容の監視手法の確立と生態系修復のための調和的管理手法の開発」（研究代表者：神山 和則）、文部科学省科学研究費若手研究(B)「沿岸域における異化型硝酸還元過程の解明に関する研究」（研究課題番号：20710011、研究代表者：千賀有希子）による研究成果の一部です。また、コロニーの同定には、国立環境研究所の渡邊圭司博士に協力いただきました。心より感謝の意を表します。

#### 参考文献

Azam F, Fenchel T, Field JG, Gray JS, Meyer-Reil LA, Thingstad F (1983) The ecological role of water-column microbial in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 10: 257-263  
Bridgman SD, Richardson CJ (2003) Endogenous versus

exogenous nutrient control over decomposition in North Carolina peatlands. *Biogeochemistry* 65:151-178  
Fuhrman JA (1999) Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 399: 541-548  
鏡味麻衣子 (2008) ツボカビを考慮に入れた湖沼食物網の解析. *日本生態学会誌*, 58, 71 - 80pp  
Thingstad TF (2000) Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnol Oceanogr* 45: 1320-1328.  
Watanabe Y (1975) Effects of partial sterilization on Epibenthic microbial community of river bed. *Jap J Ecol* 25: 53-60  
渡辺泰徳 (1990) 水界食物連鎖の新しいイメージ. - 見えてきた微小プランクトン -. *遺伝*, 44, 23 - 26pp  
Wetzel RG, Hatcher PG, Bianchi TS (1995) Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism. *Limnol Oceanogr* 40: 1369-1380  
山田悦 (2000) 第4章 環境中でのフミン物質（腐植物質）の働きを探る. 河合潤, 樋上照男編「はかってなんぼ」. 丸善株式会社, 35 - 46pp

## The Effects of Microbe and UV Radiation on the Decomposition of Dissolved Organic Matter in Lake Akanuma, Kushiro Mire (Preliminary)

SENGA Yukiko\*, TERUI Shigeharu\*\*, NOHARA Seiichi\*\*\*, WATANABE Yasunori\*

\*Faculty of Geo-Environmental Science, Rissho University

\*\* Environment grasp promotion network-PEG, NPO

\*\*\* Asian Environment Research Group, National Institute of Environmental Studies

Keywords: Dissolved organic matter(DOC), Microbial decomposition, UV radiation, Humic substance