

有明海奥部干潟域における脱窒菌群の生息分布と底質環境について

Relations between Habitat Distribution of Denitrifying Bacteria and Sediment Environment in the Tidal Flat of the Interior Parts of the Ariake Sea

瀬口昌洋¹・郡山益実²・古賀あかね³・野田美幸⁴

Masahiro SEGUCHI, Masumi KORIYAMA, Akane KOGA and Miyuki NODA

Relations between habitat distribution of denitrifying bacteria and sediment environment in the tidal flat of the interior parts of the Ariake Sea were discussed based on the data of in situ measurements and experiments. It was cleared that the number of denitrifying bacteria in the surface layer of tidal sediment specially in summer was increased with mud content that had close relations to oxidation-reduction potential and organic matter content, and vertical profiles of the number of denitrifying bacteria in the muddy sediment (0-10 cm depth) were affected with those of oxidation-reduction potential that controlled the distribution of oxidized and reduced layers there. It was considered that seasonal variations of NO_2^- and NO_3^- concentrations in the porewater of sediment were influenced by those of denitrifying action.

1. ま え が き

有明海奥部の河口域や沿岸域には、広大な天然干潟が発達している。その面積は、約 200 km²にも及び、わが国の干潟総面積の約 40 % を占める（佐藤, 2001）。この干潟には、本来、生物育成、生物生産、環境浄化、親水などの優れた多面的機能が備わっている。これらの機能は、ここでの豊かな干潟生態系における活発な窒素、リン、炭素などの物質循環によって大きく支えられてきたと考えられる。しかし、近年においては、大規模な赤潮や貧酸素水塊の頻発、奥部での底質の泥化など環境悪化が深刻化している（有明海ノリ不作等対策関係調査検討委員会, 2002）。このような状況の中で、有明海からの窒素除去に大きく寄与している脱窒（柳・阿部, 2005）などの環境浄化機能が注目されている。そして、湾全体の窒素収支における脱窒量などの評価（柳・阿部, 2005）、干潟域における脱窒特性の解明（原田・滝川, 2001）さらにはガタ土の脱窒作用を活用した排水中の窒素除去法の開発（瀬口ら, 2004）などに関する研究が行われるようになり、有明海の窒素循環や環境浄化における脱窒の重要性が再認識されるようになった。しかし、環境浄化機能としての脱窒作用を支える脱窒菌群の生息状況やその底質環境との関連性などについては、現在のところ、ほとんど明らかにされていない。したがって、奥部干潟域の脱窒や窒素循環のメカニズムを究明し、さらには内湾の環境保全策を検討するためには、これらの点を明らかにする必要がある。

本研究では、奥部干潟域における脱窒を含めた窒素循環を解明するために、底質中の脱窒菌群の生息分布と底質環境との関連性について、調査及び実験データに基づき、検討、考察した。

2. 現地測定及び実験の概要

今回の研究において設定した有明海奥部干潟域の調査及び底質採取地点①～⑭は、図-1 に示される。図示されるように、これらの 14 地点は、泥質、砂泥質及び砂質の干潟に点在する。なお、①～⑭地点の所在地及び含泥（粘土＋シルト）率は、表-1 に一覧される。

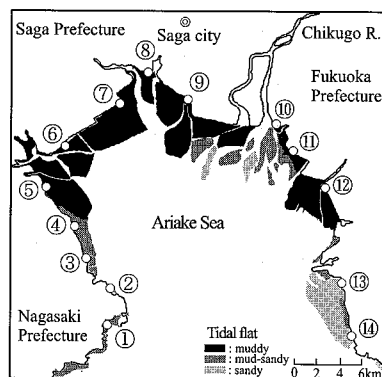


図-1 有明海奥部の干潟分布と調査及び底質採取地点

まず奥部干潟域における脱窒菌数の広域的な分布性と干潟特性との関連性を検討するために、14 地点において 2006 年 6 月、8 月、10 月、12 月に現地測定と底質の採取をした。採取試料については実験室で脱窒菌数の計測と化学分析を行った。なお、底質の採取に際しては、一般に脱窒菌数が多く、脱窒活性の高い表面から深さ 4 cm までの底質を粉スコップで採取した。次いで、奥部

1 正 会 員 農 博 佐賀大学教授農学部生物環境科学科
2 正 会 員 農 博 佐賀大学助教授農学部生物環境科学科
3 農 修 鹿児島大学大学院連合農学研究科
4 農 修 株式会社 タカギ

に広く分布する最も典型的な干潟である泥質干潟における脱窒菌数の鉛直分布の季節的推移と底質環境要因との関連性を検討するために、泥質干潟に位置する⑨地点で、2006年1月、4月～12月にわたり、各月2回現地測定と表面から深さ10 cmまでの底質をコアサンプラー（直径5 cm、長さ25 cm）で採取した。採取試料については実験室で厚さ2 cmにスライスカットした後、2 cmごとの底質中の脱窒菌数の計測と底質及びその間隙水の化学分析を行った。現地では温度とORPメーターによる酸化還元電位（Eh）を測定した。また、脱窒菌数は、Giltary培地（表-2）9 mlを入れた試験管に10倍希釈した試料1 mlを接種し、30℃に設定したインキュベーターで1週間培養した後、陽性となった試験管の本数より、MPN表に基づき算出した（土壌微生物研究会, 1997）。さらに、底質については、強熱減量（IL）、有機態炭素（Org-C）、有機態窒素（Org-N）を、また底質間隙水については、 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、 NO_3^--N を定量分析した。なお、Org-C、Org-N及び NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、 NO_3^--N の定量分析では、それぞれCHNコーダー（JM-10, J-Science LAB）及びオートアナライザー（SWAAT, BLTEC）を用いた。

表-1 底質の採取地点及び含泥率

地点	所在地	含泥率(%)*
①	長崎県小長町井崎海	27.5
②	佐賀県太良町大浦海岸	47.3
③	佐賀県太良町太良海岸	22.0
④	佐賀県鹿島町飯田海岸	45.9
⑤	佐賀県鹿島町七浦干拓	98.5
⑥	佐賀県白石町有明干拓	97.2
⑦	佐賀県福富町福富海岸	99.2
⑧	佐賀県久保田町江戸干拓	98.9
⑨	佐賀県東与賀町東与賀海岸	99.1
⑩	福岡県柳川市昭南干拓	92.9
⑪	福岡県柳川市橋本干拓	71.8
⑫	福岡県大和町大和干拓	93.3
⑬	熊本県荒尾市荒尾海岸	6.7
⑭	熊本県長洲市長洲海岸	11.4

*2006年6月、8月、10月、12月の含泥率の平均値

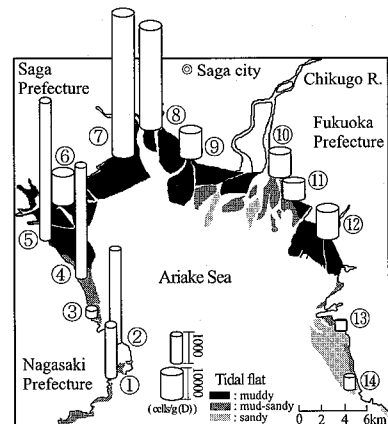
表-2 脱窒菌用培地

KNO_3	1.0 g
アスパラギン	1.0 g
BTB溶液(1 w/v%)	5.0 ml
クエン酸ナトリウム	8.5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.0 g
$\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.05 g
KH_2PO_4	1.0 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.2 g

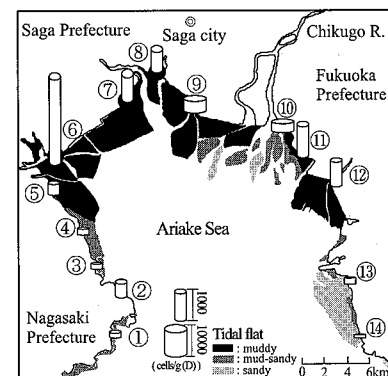
3. 結果及び考察

(1) 奥部干潟域における脱窒菌数の分布

図-2は、奥部干潟域の①～⑭地点の底質表層における夏季（8月）及び冬季（12月）の脱窒菌数の分布を示



August, 2006



December, 2006

図-2 有明海奥部干潟域における8月と12月の脱窒菌数の分布

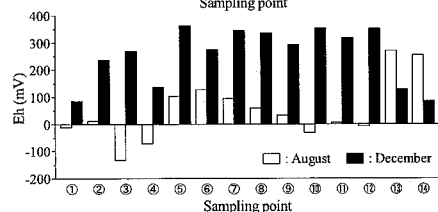
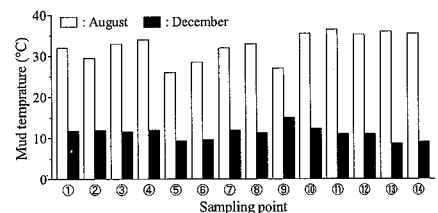


図-3 有明海奥部干潟域における8月と12月の泥温及びEhの分布

したものである。図示されるように、夏季の脱窒菌数は、全般的に冬季の脱窒菌数に比較して非常に多かった。特に最奥部の泥質干潟に位置する⑦、⑧地点の脱窒菌数は、34,000～46,000 cells/g (D)にも達した。また、夏季や冬季の各地点の脱窒菌数には、大きな差異が見られた。

そこで、まず脱窒菌の生息環境要素として重要な各地点の夏季及び冬季における底質表層の温度と Eh を示すと、図-3 となる。図示されるように、夏季の底質表層の温度は、当然冬季のそれに比して高く、26～37℃の範囲で分布した。また、夏季の Eh も、各地点によって大きく異なっており、-130～270 mV の広い範囲で分布した。しかし、冬季の Eh は、いずれの地点においても 80 mV 以上の正の値を示した。これは、温度の低い冬季においてバクテリアによる底質中の有機物質の分解が抑制され、底質中の酸素消費量が大きく減少したためと推察される。したがって、このような夏季と冬季の脱窒菌の生息環境の差異が、両季節間の脱窒菌数の大きな違いや地点間の分布性に強く影響したと考えられる。

さらに Eh と密接な関係にある底質の含泥率と脱窒菌数の関係、また含泥率と Org-C 及び Org-N の関係を示すと、それぞれ図-4～6 となる。図示されるように、

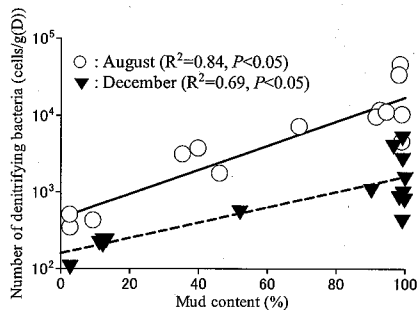


図-4 8月と12月における含泥率と脱窒菌数の関係

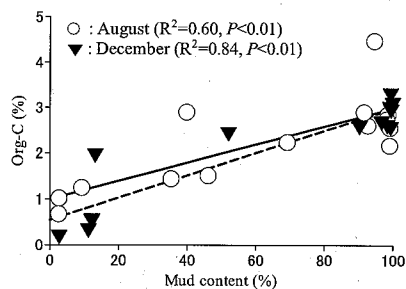


図-5 8月と12月における含泥率と Org-C の関係

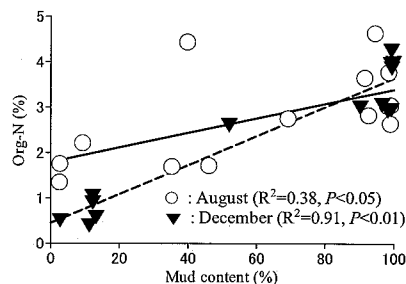


図-6 8月と12月における含泥率と Org-N の関係

夏季、冬季ともに脱窒菌数と含泥率との間には、高い正の相関性が見られた。しかし、夏季の回帰直線の勾配は、冬季のそれよりも大きかった。すなわち、冬季より夏季において含泥率は脱窒菌数を大きく左右すると考えられる。

一方、含泥率と Org-C 及び Org-N との間には、両季節とも高い正の相関性が見られた。また、両季節間の回帰直線の勾配の差異は、干潟への有機物質の供給量と底質中の有機物質の分解量の季節間の違いを反映したと考えられる。したがって、特に夏季において最奥部の泥質干潟に位置する⑦、⑧地点で脱窒菌数が非常に多く、逆に西岸や東岸の砂質干潟に位置する③、⑬、⑭地点で脱窒菌数が非常に少ないのは、重要な環境要素としての含泥率と脱窒菌の代謝において電子供用体となる有機物質量の違いが強く影響したと推察される。

(2) 泥質干潟における脱窒菌数の鉛直分布と季節変化

図-7 は、奥部の最も典型的な泥質干潟に位置する⑨地点における干潟表面から深さ 10 cm までの底質中の総脱窒菌数と Eh の平均値及び表層 (0～4 cm) の泥温の経時変化を示したものである。図示されるように、総脱窒菌数は、全般的には夏季 (7～9 月) に増加した。また、この季節の Eh は、0 mV を挟んだ -80～20 mV の範囲で変動しており、底質は酸化的状態から還元状態への移行期にあった。

そこで、さらに⑨地点における底質中の脱窒菌数と Eh の鉛直分布及びそれらの季節変化をより詳細に検討するために、脱窒菌数と Eh を厚さ 2 cm ごとに深さ 10 cm まで測定し、それらの鉛直分布を経時的に示すと、図-8 となる。図示されるように、Eh の鉛直分布は、特徴的な季節変化を示した。すなわち、春季 (4～6 月)

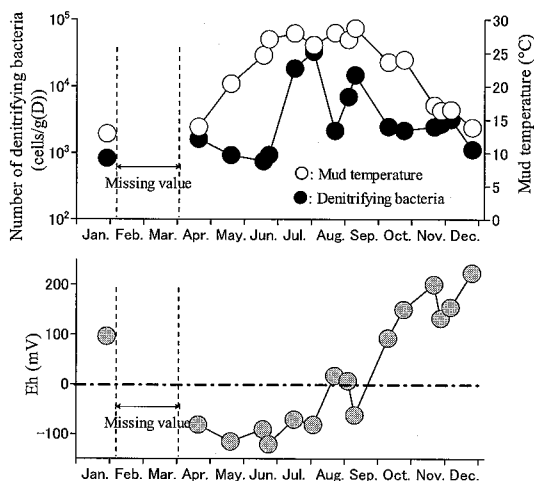


図-7 泥質干潟(⑨地点)における総脱窒菌数、泥温及び Eh の経時変化

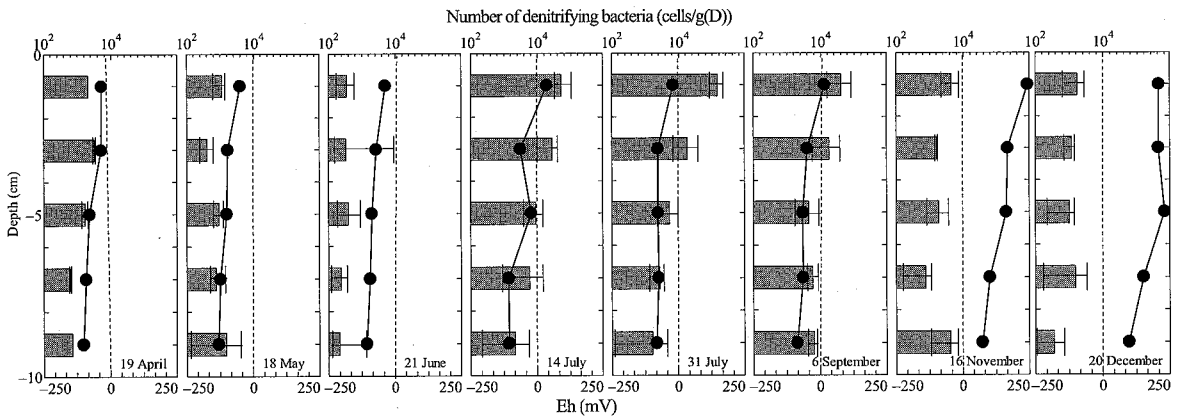


図-8 泥質干潟(⑨地点)における脱窒菌数と Eh の鉛直分布の経時変化 (■ : 脱窒菌数, ● : Eh)

においては、Eh は全層 (0 ~ 10 cm) にわたって -160 ~ -30 mV となり、還元の状態であった。しかし、夏季 (7 ~ 9 月) においては、Eh は表面付近の 0 mV 前後から下層に向かって -100 mV に変化し、表面付近の酸化状態と下層の還元状態が共存した。さらに、秋季 (10 月) から冬季 (11, 12 月) にかけては、Eh は全層にわたって 30 ~ 300 mV となり、春季とは逆に酸化状態であった。このような Eh の鉛直分布の推移は、底質中の有機物質の分解による酸素消費やマクロベントス (多毛類や甲殻類など) による巣穴形成などの生物学的攪乱の泥温変化に伴う消長が深く関与したと考えられる (瀬口ら, 2002)。一方、上述した底質中の Eh の鉛直分布の推移に呼応するような脱窒菌数の鉛直分布の季節変化が見られた。すなわち、底質中の全層が還元状態にある春季においては、脱窒菌数は全体的に少なく、200 ~ 3,000 cells/g (D) であった。しかし、酸化的及び還元状態の共存する夏季においては、脱窒菌数が 500 ~ 50,000 cells/g (D) へと増加した。さらに、全層が酸化状態となる秋季~冬季においては、脱窒菌数は 300 ~ 9,400 cells/g (D) に減少した。また、夏季の脱窒菌数と Eh の鉛直分布の対比から明かなように、脱窒菌数は、底質が酸化的状態から還元状態に移する Eh=0 mV 付近の層 (RPD 層) を中心に多く分布する傾向が伺われる。これは、脱窒菌が好気及び嫌気呼吸をする通性嫌気性菌であるためと考えられる (栗原, 1991)。

(3) 底泥間隙水の無機態窒素濃度の季節変化と脱窒

図-9 は、⑨地点における干潟表面から深さ 10 cm までの底泥間隙水中の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 及び $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 濃度 (以降、 NH_4^+ 、 NO_2^- 及び NO_3^- と記す) の季節変化を示したものである。図示されるように、各無機態窒素濃度は特徴的な季節変化を呈した。すなわち、 NH_4^+ は、春季 (4 ~ 6 月) から夏季 (7 ~ 9 月) にかけて 7 mg/l 前後まで増加した後、再び冬季 (11, 12 月)

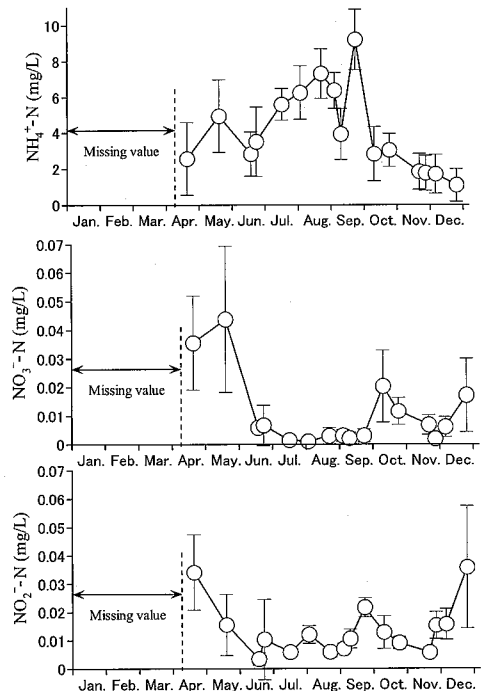


図-9 泥質干潟(⑨地点)における底泥間隙水中の無機態窒素濃度の経時変化

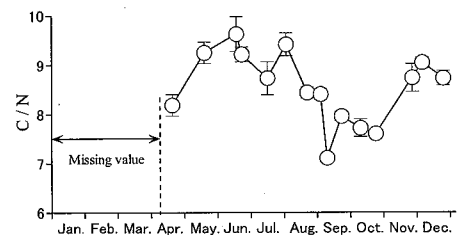


図-10 泥質干潟(⑨地点)における底泥の C/N 比の経時変化

に約 1.6 mg/l まで減少した。そこで、干潟表面から深さ 10 cm までの底泥中の C/N 比の経時変化を示すと、

図-10 となる。図示されるように、C/N 比は、 NH_4^+ とはほぼ逆の季節変化を示した。すなわち、C/N 比は、夏季に 7.5 前後まで減少し、春季や冬季に 9 前後まで増加した。一般に C/N 比は、有機物質が分解、無機化した場合、6～7 程度に低下する（小池，2000）。したがって、C/N 比が夏季に低下したのは、泥温の上昇（図-7）に伴って底泥中の有機物質の分解、無機化が進んだためと考えられる。また、 NH_4^+ は、有機物質の分解、無機化により生成されるため（William・James, 2000），図示されるような NH_4^+ の季節変化は、泥温の季節変化に伴う有機物質の分解、無機化の季節変動を大きく反映したと推察される。一方、 NO_2^- 及び NO_3^- は、ほぼ類似した季節変化を示した。すなわち、 NO_2^- 及び NO_3^- は、春季（4月）に約 0.035 mg/l と高いが、夏季（6～9月）においてはそれぞれ約 0.008 mg/l 及び約 0.002 mg/l に低下し、さらに冬季（12月）にはそれぞれ約 0.035 mg/l 及び約 0.018 mg/l に増加した。このような NO_2^- と NO_3^- の季節変化の類似性は、ともに底泥中での脱窒作用が深く関与していると推定される。すなわち、図-7 に示したように、夏季における底泥中の脱窒菌数の増加に伴って脱窒作用が高まり、脱窒菌の代謝において電子受容体となる NO_2^- 及び NO_3^- が還元され、 N_2 に変化したために、大きく減少したと推察される。

4. ま と め

本研究では、有明海奥部干潟域における窒素循環機構の解明とそのモデル化を前提に、底質中の脱窒菌群の生息分布と底質環境との関連性について、調査及び実験データに基づき、検討、考察した。その結果、明らかとなった主な知見を要約すると、以下ようになる。

- (1) 奥部干潟域における底質表層（表面から深さ 4 cm）の脱窒菌数は、干潟の特性や季節により大きく異なった。特に夏季においては、最奥部の泥質干潟で脱窒菌数が最も多く、約 46,000 cells/g (D) であった。しかし、東岸域や西岸域の砂質干潟では脱窒菌数が約 400 cells/g (D) と少なかった。
- (2) 底質中の脱窒菌数と含泥率との間には、高い正の相関性が見られた。特に夏季においては、含泥率は脱窒菌数を左右する重要な要素であると考えられた。その理由として、含泥率が底質中の Eh を直接的に影響すると同時に、含泥率が Org-C 及び Org-N との間の高い相関性より、含泥率が脱窒菌の代謝において電子供用体となる有機物質質量と密接な関係にあるためと推察された。
- (3) 奥部の最も典型的な干潟である泥質干潟（⑨地点）の底泥中（表面から深さ 10 cm）において、春季では、全層でほぼ還元的状態となり、脱窒菌数は 200～

3,000 cells/g (D) と少なかった。しかし、夏季では、表面付近で酸化の状態、下層で還元的状態となり、脱窒菌数は表面付近の酸化状態から還元的状態に移行する層（RPD 層）付近で約 50,000 cells/g (D) と非常に多かった。さらに、冬季では、全層でほぼ酸化状態となり、脱窒菌数は 300～9,400 cells/g (D) と少なかった。

- (4) 泥質干潟（⑨地点）において、干潟表面から深さ 10 cm までの底泥間隙水中の NH_4^+ は、春季から夏季にかけて増加し、冬季に減少した。また、 NO_2^- 及び NO_3^- は、夏季に減少し、冬季、春季に増加した。このような NH_4^+ 及び NO_2^- 、 NO_3^- の季節変化は、それぞれ底泥中の有機物質の分解、無機化及び脱窒作用の季節に伴う消長が大きく影響していると推察された。

謝辞：本研究を実施するに際し、平成 18 年度科学研究費補助金（基盤研究（B））、代表者：瀬口昌洋）及び佐賀大学有明海総合研究プロジェクトより、多大な支援を受けた。また、現地調査や底質の採取さらには化学分析などの際には、大学院修士 2 年の木本浩二君、萬代敏夫君より協力を頂いた。このことを、ここに付記し、深謝申し上げます。

参 考 文 献

- 栗原 康(1991)：河口・沿岸域の生態学とエコテクノロジー、東海大学出版会、335p。
- 小池勲夫編(2000)：海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際、産業環境管理協会、195p。
- 佐藤正典編(2001)：有明海の生きものたち 干潟・河口域の生物多様性、海游舎、396 p。
- 瀬口昌洋・郡山益実・加藤 治(2002)：泥質干潟におけるマクロベントスの巣穴形成とその硝化・脱窒過程への影響、水工学論文集、第 46 巻、pp. 1169-1174。
- 瀬口昌洋・郡山益実・加藤 治(2004)：干潟域底泥による水中の無機態窒素化合物の除去特性、水工学論文集、第 48 巻、pp. 1297-1302。
- 土壤微生物研究会編(1997)：土壤微生物実験法、養賢堂、411p。
- 農林水産省有明海ノリ不作等対策関係調査検討委員会(2002)：有明海の現状について－13 年度調査と過去の資料の解析を踏まえて、pp. 2-5。
- 原田浩幸・滝川 清(2001)：有明海泥質・砂質干潟底泥の水質浄化機能と生物攪乱の影響、海岸工学論文集、第 48 巻、pp. 1126-1129。
- 柳 哲雄・阿部良平(2005)：有明海奥部における塩分と DIP・DIN 収支の経年変動、海の研究、14(1)、pp. 21-33。
- 柳 哲雄・阿部良平(2005)：有明海奥部における 1979 年と 1999 年の窒素収支の変化、海の研究、15(1)、pp. 67-75。
- William J. M. and G. G. James(2000)：Wetlands, John Wiley & Sons, 920p。