

(29) 湖沼底泥のメタン生成細菌の動態と硫酸還元菌による底泥巻き上げの評価

POPULATION DYNAMICS OF METHANOGENIC BACTERIA IN LAKE SEDIMENT AND
ESTIMATION OF SEDIMENT ROLLING UP BY SULFATE REDUCING BACTERIA

遠藤 銀朗*

Ginro ENDO*

ABSTRACT: Methanogenic bacteria and sulfate reducing bacteria play important roles of environmental self-purification in their anaerobic habitats such as lake or river sediment and paddy fields. Because methanogenic bacteria decompose organic substances to methane and carbon dioxide and evolve these gases to the atmosphere, these microorganisms are taken seriously as producers of gases relating to green house effects of the globe. In this study, the author investigated counting methods of viable anaerobic microorganisms which exist in the sediment of a freshwater lake. Estimation of the rolling up of sedimental solids and its influence for water quality were also investigated by counting the number of anaerobic microorganisms in the surface water. The results derived from this study showed that the viable counts of methanogenic bacteria in a lake sediment changed according to the seasonal change in the condition of the sediment such as temperature and composition of organic materials. A clear correlation was found out between the water quality indexes and the number of viable sulfate reducing bacteria in the lake surface water. This result shows the lake water quality was strongly influenced by the rolling up of sediment. Because methanogenic bacteria were detected in very small number in the surface water, methanogenic bacteria were not good indicator microorganisms which must have high survival potential in aerobic environments.

KEY WORDS: methanogenic bacteria, sulfate reducing bacteria, seasonal change of anaerobic bacteria, sediment rolling up, water quality of a lake.

1. はじめに

メタン生成細菌および硫酸還元細菌は、湖沼や河川底泥および水田土壌などの嫌気的環境において有機物を代謝分解することによって環境浄化上の重要な役割をなしていると考えられる。また、前者はメタンガスおよび炭酸ガスとして有機物中の炭素を大気中に放散せしめる物質循環系を担っているため、一方では温室効果ガスの発生原因を作る微生物として地球環境問題上も重要視されている。しかしこのような嫌気性細菌の自然環境中での存在数や動態に関する研究は十分にはなされておらず、環境水域における温室効果ガスの発生ポテンシャルの定量的な把握は十分になしえない状況にある。

湖沼に流入するあるいは湖沼内で生産される有機物は、図-1に示したように湖沼底泥へと移行し生物分解を受ける場合が多い。したがって底泥は主な自浄作用の場と考えられるが、底泥のごく上部を除いてその大部分は分子状酸素の欠乏した嫌気的環境である。底泥層に移行した有機物はまずClostridium属細菌のような加水分解能力をもつ嫌気性微生物によって分解され、発酵性微生物によって有機酸やアルコールなどの中間代謝産物に変換される。低分子化された有機物は硫酸還元菌や酢酸生成細菌などによって H_2 、ギ酸、酢酸などに変えられた後、最終的にメタン生成細菌によってガス状物質に変えられ湖沼系外へ放出されと考えられる。しかし嫌気性微生物の湖沼自浄作用における役割を定量的に把握した報告は少ない。本研究では宮城県北部に位置し、特に水鳥の生息地として国際的に重要な湿地に関する条約（ラムサール条約）の指定湖沼である伊豆沼を調査対象水域として、湖沼底泥中に生息するメタン生成細菌を把握するための培養計数法を検討したとともに、生菌数の季節的変動と湖沼底泥の置かれた状況との関連について考察を加えた。また、調査対象湖沼の季節的な水質変動が有機物を含んだ湖沼底泥の巻き上げによってもたらされることを立証するために、表層水中の嫌気性細菌数を計数しこれと水質との関係について検討した。

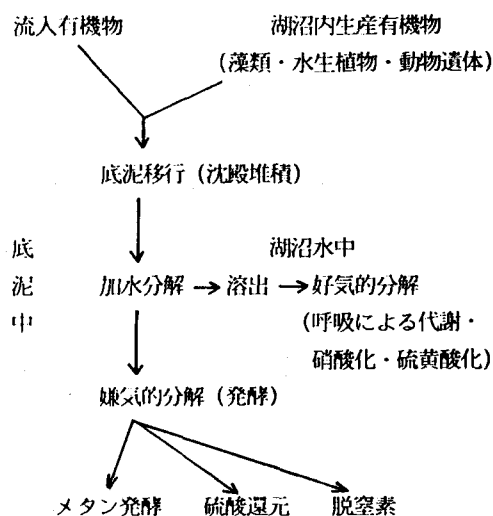


図-1 湖沼における有機物分解概略

2. 調査方法

湖沼底泥中の嫌気性微生物の生存数の季節的変動を調べるために、伊豆沼（図-2参照一周囲約12km最大水深約1.5m（平常時））の同一ポイントより季節ごとに底泥試料を採取した。この試料は深さ0～12cmの底泥層を塩化ビニルパイプによってコア状に採取したもの混合試料である。採取した試料は

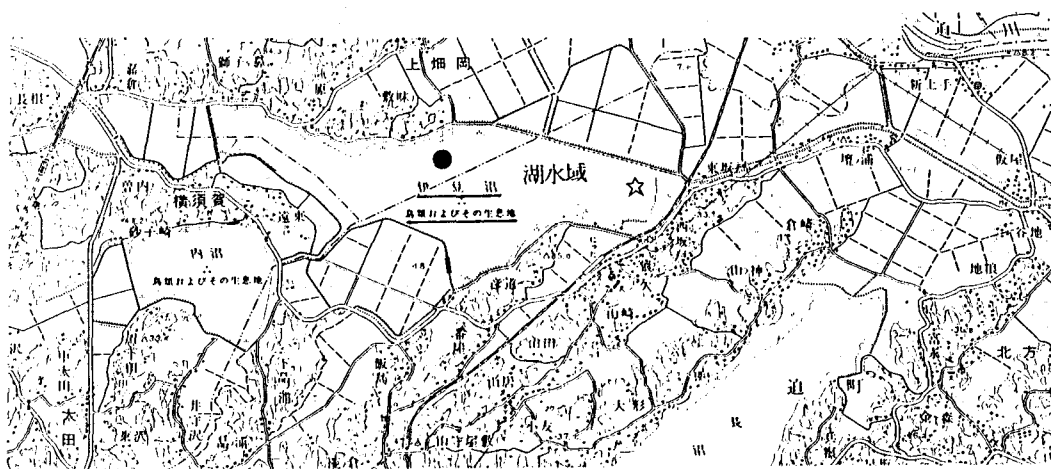


図-2 伊豆沼の地形図

★流入点、☆流出点、●中間点

1 km

計測の対象となる全微生物の測定が終了するまでの期間（2週間～3週間）4℃の冷蔵庫に保存した。各生菌数の測定に先立って、よく混合した底泥試料1gを9mlの塩酸システイン（0.3mg/ml）およびレサズリン（0.01mg/ml）を含む脱酸素した滅菌生理食塩水に懸濁したあと、40Wのソニケーターで約10秒間処理して微生物の分散をはかり10倍希釈法で嫌氣的に希釈（ガス噴射法による）して試料とした。測定対象とした嫌気性微生物は寒天培地上で増殖する次の6種のものである。（1）一般嫌気性細菌群、（2）*Clostridium* 用の培地¹⁾で白～黄色コロニーを形成する微生物、（3）硫酸還元菌の培地¹⁾で黒色コロニー形成する微生物、（4）ギ酸資化性メタン生成細菌用の培地²⁾で白～黄色コロニーを形成する微生物、（5）水素資化性メタン生成細菌用の培地²⁾で白～黄色コロニーを形成する微生物、（6）酢酸資化性メタン生成細菌用の培地²⁾で増殖する嫌気性微生物群。（5）の微生物の計数はガス噴射法－プレートボトル寒天平板塗抹法により、その他の群はガス噴射法－ロールチューブ法³⁾による嫌気性培養法によった。培養はいずれも35℃で行なった。

伊豆沼の底泥の巻き上げによる水質への影響を評価するために秋季～冬季の4か月間に6回にわたって、伊豆沼表層水のサンプリングと気象（主として風速・風向）の測定を行なった。この場合には、伊豆沼に流入する河川の流入点付近（湖沼西部）、中間点（底泥サンプリング箇所と同じ）および流出点（湖沼東部）の3地点でなされた。これらの試料水1mLを塩酸システイン（0.3mg/L）およびレサズリン（0.01mg/L）を含む9mLの脱酸素滅菌生理食塩水に懸濁した後、無酸素ガス噴射下で10倍希釈法によって嫌氣的に必要な倍率まで希釈した。このうち3段階の希釈サンプル1mLを5本ずつのギ酸資化性メタン生成細菌用液体培地、硫酸還元細菌用液体培地および一般嫌気性細菌用液体培地に分注し、ガス噴射法によって嫌氣的条件下で培養した後、5本法の最確数法（MPN法）によって試料水中の微生物数を求めた。また、水質分析はpH、D.O、透視度、水温を現地において測定し、BOD、COD、濁度等は実験室で行なった。

3 調査結果

種々の培地および培養方法によって培養した場合の嫌気性細菌のコロニー形成状況を図-3に示した。これらのコロニーは全てが必ずしも目的とする嫌気性微生物とは限らないが、湖沼底泥において培地中に含まれる有機物代謝に関与する微生物のコロニーと考えることができる。またメタン生成細菌の計数培養ではボトルおよび試験管内でのメタンガスの発生をガスクロマトグラフを用いて確認した。

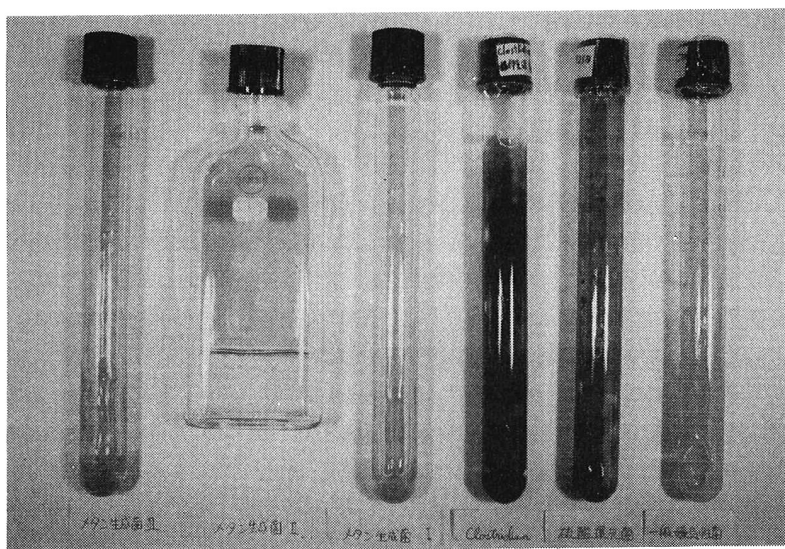


図-3 各方法で培養した嫌気性微生物のコロニー

一般嫌気性細菌、硫酸還元菌、*Clostridium* の培地で計数された微生物の生存数の季節変化を図-4に示した。一般嫌気性細菌は湖沼底泥に生息する微生物数の全体的変化を示すものと考えられるが、夏季に減少し秋季から冬季にかけて増加することが知られた。また硫酸還元菌も同様な傾向を示した。一方、*Clostridium* の培地で生育する微生物数は夏季に最大値となり前期2つの微生物とは異なる傾向を示した。各基質資化性に応じたメタン生成細菌の季節変化を図-5に示した。この図より、酢酸資化性メタン生成細菌のみが夏季に増大するが、ギ酸および水素資化メタン生成細菌は夏季に減少することが知られた。これらの結果は、*Clostridium* と酢酸資化性メタン生成細菌が高温時に増殖が促進されていることを示すとともに、ほかの微生物は低温期ではあっても水生植物や藻類等の枯死遺体が底泥に供給される秋から冬にかけて増殖が活発化されることによると考えられる。

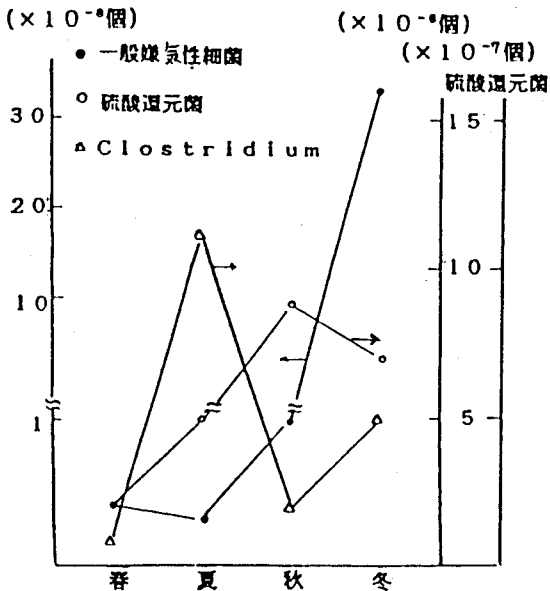


図-4 一般嫌気性細菌、硫酸還元菌、*Clostridium* の季節変化

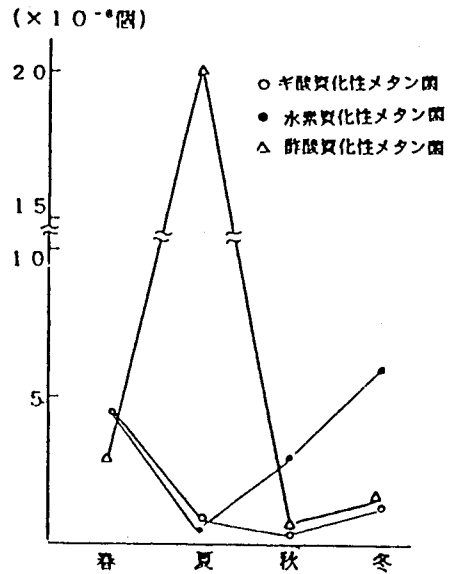
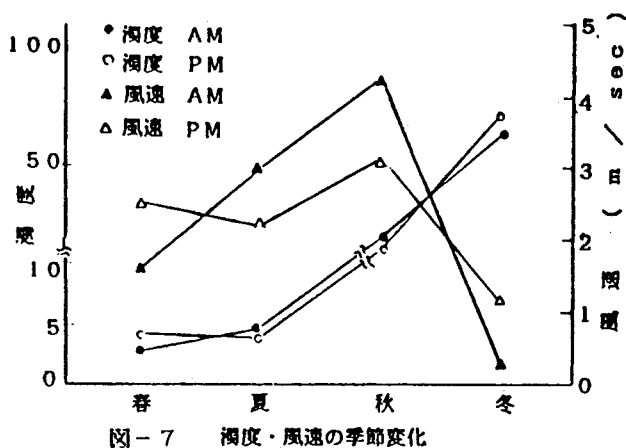
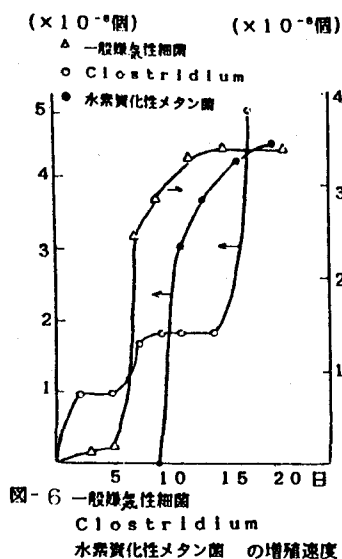


図-5 ギ酸資化性メタン菌、酢酸資化性メタン菌、水素資化性メタン菌の季節変化

図-6に嫌気性微生物として代表的な一般嫌気性細菌、*Clostridium*、水素資化性メタン生成細菌用の各培地でのコロニー形成曲線を示した。一般嫌気性細菌は植菌日から3日後にはコロニーを形成しはじめ、経過15日頃までに全てのコロニーが出尽くし、比較的速やかに増殖した。*Clostridium* は植菌日から2日後に出はじめるが、一旦停滞し経過15日過ぎに急速にコロニーを形成した。一方水素資化性のメタン生成細菌は、コロニー形成まで10日間ほどを要し、ギ酸資化性や酢酸資化性のメタン生成細菌はコロニーの形成に1ヵ月以上を要し、増殖速度が小さいことが知られた。

上記調査に付随して調べた湖沼水質と風速との関係を図-7に示した。この結果より、湖沼水の濁度は同じ1日のなかでも風速の大きいときに悪化しており、風波による底泥の巻き上げが生じたことによると推察された。また冬季において顕著な濁度の増大が見られたが、その原因については水理的要因によるものであるか生物的要因によるものであるかを明らかにする必要があると考えられた。底泥の巻き上げが生じていることを確認するためにまた底泥の巻き上げの程度を評価するために、表層水中では増殖することのない嫌気性細菌の生存数を調べた。



伊豆沼流入河川水を用いて測定した硫酸還元細菌数は 10^2 (cell/mL) 以下と少なかったことから、この湖沼に通常流入する硫酸還元細菌は湖沼底泥で増殖し生息する硫酸還元細菌のそれに比較して無視できるものと考えられる。流れ方向における中間点での水質および硫酸還元細菌の測定結果を表-1に示した。また伊豆沼流出点での測定結果を表-2に示した。これらの結果によれば、濁度・透視度・SSといった水質項目と表層水の硫酸還元細菌数との相関がみられることが知られる。また気象条件との関係として北西風の強い場合に水質汚濁が著しいことが知られる。風が強い場合でも南西風の場合にはそれほど極端な水質悪化はみられず、同時に硫酸還元細菌の増加も顕著にはみられない。図-2に示したように、伊豆沼は西北西から東南東にむかう長い湖沼形態を有しており、北西風による風波または水平循環流の発生を引き起こす。

表-1 水質及び気象調査結果と硫酸還元細菌数 (中間点)

採取日	890926	891018	891109	891121	891208	891215
天候	晴	曇り	雨	晴	曇り	曇り
風向き	西	西北西	-	西 南 西	西北西	西北西
風速 (m/sec)	2.88	8	8	4.64	6.33	2.87
水温 (°C)	21.2	12.3	15.2	14.5	9.9	5.3
透視度 (cm)	57.5	15.4	33.4	10.2	3.4	8.5
P H	6.63	6.96	6.81	7.37	7.05	7.09
アルカリ度 (mg/l)	48.915	79.798	90.656	85.073	83.699	48.488
濁度	10.75	39.5	16.8	84.8	157.5	67.8
S S (mg/l)	2.3	20.7	5.3	83.7	228.0	102.8
D O (mg/l)	9.2	10.9	5.24	10.1	9.8	11.5
C O D (mg/l)	6.156	6.977	5.192	10.363	15.328	5.848
B O D (mg/l)	3.439	4.564	4.512	4.574	11.608	5.325
硫酸還元細菌数 (Cell/ml) (菌数)	<10 ⁴	33・10 ⁴	<10 ⁴	2・10 ⁴	-	7・10 ⁴

しやすいと考えられる。北西季節風の気象状態の多い冬季に浅い湖である伊豆沼は風波等による底泥の巻き上げを生じているものと推察され、それが極端な水質悪化を引き起こしていると考えられる。嫌気性細菌として同時に測定したメタン生成細菌は、 10^2 (cell/mL) 以下しか検出されず、溶存酸素の存在する表層水中では速やかに死滅してしまうものと考えられ、感度的に底泥巻き上げの指標細菌としては不適切であることが知られた。また一般嫌気性細菌についても計数を行なったが、こちらは通性嫌気性細菌をも計数対象とするため表層水中に常に生息する微生物が高いバックグラウンドを与え、水質の悪化していない場合でも悪化時と同様に高い値を示した。

表-2 水質及び気象調査結果と硫酸還元細菌数 (流出点)

採取日	890926	891018	891109	891121	891208	891215
天候	晴	曇り	雨	晴	曇り	曇り
風向き	北西	西	-	西 南 西	西	北 北 西
風速 (m/sec)	1.64	1.25	0	5.85	7.74	4.86
水温 (℃)	20.7	14.4	15.1	13.3	8.8	4.2
透視度 (cm)	100.0	30.8	36.5	10.5	2.5	3.6
P H	6.59	6.55	6.88	7.21	7.11	6.88
アルカリ度 (mg/l)	53.915	82.812	46.741	47.828	48.915	45.871
濁度	4.8	15.5	13.4	52.8	174.8	147.5
S S (mg/l)	0.2	2.7	4.7	44.7	400.8	178.7
D O (mg/l)	8.1	10.0	5.85	9.7	10.1	10.6
C O D (mg/l)	5.548	5.438	5.561	8.434	17.709	15.738
B O D (mg/l)	1.428	2.595	1.636	3.345	10.337	10.338
硫酸還元細菌数 (cell/ml) (最少数)	$<10^4$	$2 \cdot 10^4$	$<10^4$	$2 \cdot 10^4$	-	$8 \cdot 10^4$

5. おわりに

メタン生成細菌や硫酸還元細菌のような自然環境中に生息する嫌気性細菌は、自然界の物質循環で最終分解者として重要な生態系の構成要員に位置付けられる。湖沼や河川の水系においては、底泥という嫌気的環境で有機物の分解を営みそれを通して浄化に関与している。一方、温室効果ガスの発生者としても注目されるため自然界におけるこれらの微生物の生態はさらに詳しく知らなければならないと考えられる。特に、水系の汚濁の状態とメタンや炭酸ガスの発生がこれらの微生物の動態とどのように関連しているのかを知ることが、発生量を予測するうえで基本的に必要とされる情報であると考えられる。湖沼の水質悪化の原因として有機物成分や濁度成分を多量に含んだ底泥の巻き上げが問題とされることが多い。本研究では一つの試みとして底泥で生息する嫌気性細菌を指標として底泥巻き上げを評価してみた。指標細菌としての利用もふくめて環境中での嫌気性細菌のモニタリングが可能となれば、環境汚染や浄化のメカニズムに関するこれまで未知であったいくつかが明らかになってくるものと考えられる。

参考文献

- 1) 微生物研究懇談会編；微生物学実験法，講談社サイエンティックス，1975
- 2) Balch W.B. et al.; Microbiological Reviews, Vol.43, No.2, 260-296, 1979
- 3) Bryant M.P.; Journal Clinical Nutrition, Vol.55, 1324-1328, 1972