

人工干潟におけるアナモックス細菌数の脱窒・アナモックス速度に与える影響

東京都市大学院	学生会員	○篠崎知美
東京都市大学院	学生会員	梅田悠輔
東京都市大学	フェロー	村上和男
(独) 港湾空港技術研究所	正会員	桑江朝比呂
五洋建設株式会社	正会員	中瀬浩太

1. はじめに

干潟には多種多様な生物が生息しており、窒素・リン等の栄養塩類の消費の場となっていると考えられている。脱窒は窒素を干潟系外へ除去するため、干潟の栄養塩除去を考える上で重要な過程であると考えられる。脱窒とは、脱窒菌と総称される細菌の働きによって、硝酸態窒素が還元され窒素ガスとして大気へ放出される反応である。また、亜硝酸態窒素とアンモニア態窒素から窒素ガスを生成するアナモックスという反応がある。本研究では、人工干潟における脱窒・アナモックス反応を、r-IPT 法¹⁾を用いて定量的に測定し、堆積物中のアナモックス細菌数がアナモックス反応に与える影響を調査した。

2. 調査地点

2.1 東京港野鳥公園・潮入りの池

東京港野鳥公園・潮入りの池の概要を図 1 に示す。潮入りの池は、隣接している東京湾と 2 本の水路でのみ海水交換が行われている閉鎖性の高い人工干潟である。干潟の総面積は約 57000m²、潮間帯面積は約 35000m²、潮下帯面積は約 22000m²、干潟内の水深は 1~2m である。サンプルの採泥は、図 1 に示す潮間帯・潮下帯の 2 地点にて行った。

2.2 横浜港湾空港技術調査事務所・潮彩の渚

横浜港湾空港技術調査事務所内に位置する潮彩の渚の概要を図 2 に示す。潮彩の渚は、人工造成された干潟・磯場等環境実験施設である。特徴として、上・中・下段の三段からなる棚式構造となっている。サンプルの採泥は、図 2 に示す上段・中段の 2 地点にて行った。上段と中段の高低差は約 0.5m となっており、どちらも満潮時には水没し干潮時には干出する潮間帯である。

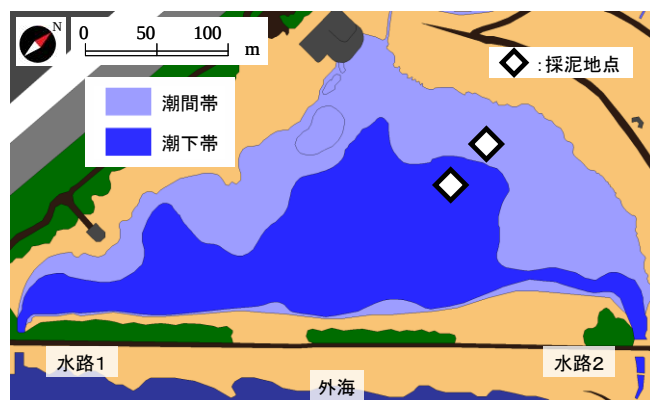


図 1 東京港野鳥公園・潮入りの池

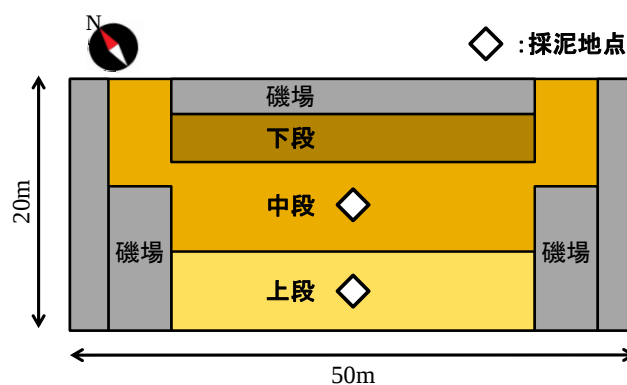


図 2 横浜港湾空港技術調査事務所・潮彩の渚

3. 脱窒・アナモックス速度の測定

サンプルの採泥は、アクリルコアを用いて行った。コアサンプルの直上水中の¹⁵N濃度が100μmol N/lと200μmol N/lの濃度となるようNa¹⁵NO₃を添加し、それぞれ3時間と6時間の培養を行った。培養後にコア内の堆積物および直上水をスラリー状にしたものをバイアル瓶に入れ、²⁹N₂、³⁰N₂の質量分析を行った。質量分析の結果から、²⁹N₂、³⁰N₂の生成速度を求めた。100μmol N/lの濃度条件で測定した²⁹N₂、³⁰N₂の生成速度を、それぞれ $p^{29}N_2^{(t)}$ 、 $p^{30}N_2^{(t)}$ とし、200μmol N/lの

濃度条件で測定した $^{29}\text{N}_2$, $^{30}\text{N}_2$ の生成速度を, それぞれ $p^{29}\text{N}_2^{(2)}$, $p^{30}\text{N}_2^{(2)}$ とする. 求めた生成速度から, 式 1 ~ 4 に示す r-IPT 法の式を用いて脱窒・アナモックス速度を算出した.

$$V = \frac{p^{29}\text{N}_2^{(1)} + 2p^{30}\text{N}_2^{(1)}}{p^{29}\text{N}_2^{(2)} + 2p^{30}\text{N}_2^{(2)}} \quad (1)$$

$$r_{14} = \frac{p^{29}\text{N}_2^{(1)} - V \cdot p^{29}\text{N}_2^{(2)}}{2(p^{30}\text{N}_2^{(1)} - V^2 \cdot p^{30}\text{N}_2^{(2)})} \quad (2)$$

$$r - \text{IPT}p^{14} = 2 \cdot r_{14} \{ p^{29}\text{N}_2 + p^{30}\text{N}_2(1 - r_{14}) \} \quad (3)$$

$$\text{Anammox} = 2 \cdot r_{14} (p^{29}\text{N}_2 - 2r_{14} \cdot p^{30}\text{N}_2) \quad (4)$$

4. アナモックス細菌数の分析

堆積物中のアナモックス細菌数が, アナモックス速度に影響を与えるかを調べるため, アナモックス細菌数の分析を行った. 細菌分析用の採泥は, 6 月に東京港野鳥公園・潮入りの池の潮間帯・潮下帯で, 8 月に横浜港湾空港技術調査事務所・潮彩の渚の中段で, それぞれ脱窒・アナモックス速度測定用サンプルの採泥地点と同点にて, 表層深さ 10cm 程度で行った. アナモックス細菌数の分析は株式会社テクノスルガ・ラボに依頼した. 分析には, サンプル中のアナモックス細菌の DNA を増幅させ, リアルタイムで観測し, DNA の量を推定するリアルタイム PCR 法を用いた. 本調査では標的遺伝子にヒドラジン酸化還元酵素遺伝子 (hzo) を用いた.

5. 調査結果

東京港野鳥公園・潮入りの池の潮間帯・潮下帯および横浜港湾空港技術調査事務所・潮彩の渚の上段・中段の, 8 月と 12 月の脱窒・アナモックス速度の測定結果を図 3 に示す. 脱窒・アナモックス速度の測定値はそれぞれ, 潮入りの池では $400 \sim 1035 \mu\text{mol N}/\text{m}^2/\text{h}$, $134 \sim 526 \mu\text{mol N}/\text{m}^2/\text{h}$ となり, 潮彩の渚では $27 \sim 278 \mu\text{mol N}/\text{m}^2/\text{h}$, $12 \sim 114 \mu\text{mol N}/\text{m}^2/\text{h}$ となった. また, 各調査地点の 8 月と 12 月の脱窒・アナモックス速度を比較した結果, 脱窒・アナモックス速度は夏季に大きくなる傾向が見られた.

東京港野鳥公園・潮入りの池の潮間帯・潮下帯および横浜港湾空港技術調査事務所・潮彩の渚の中段における, リアルタイム PCR 法による堆積物サンプル 1g

当たりの標的遺伝子のコピー数を図 4 に示す. 各調査地点の標的遺伝子のコピー数を比較すると, 潮入りの池の潮間帯と潮下帯はオーダーが同じであるが, 潮彩の渚の中段はオーダーの違いが見られた. この結果より, 堆積物中のアナモックス細菌数は, 潮入りの池が潮彩の渚より多いことが示された.

6. まとめ

東京港野鳥公園・潮入りの池と横浜港湾空港技術調査事務所・潮彩の渚の, 脱窒・アナモックス速度および堆積物中のアナモックス細菌数を比較した結果, 堆積物中のアナモックス細菌数がアナモックス速度に影響を与えていることが示唆された.

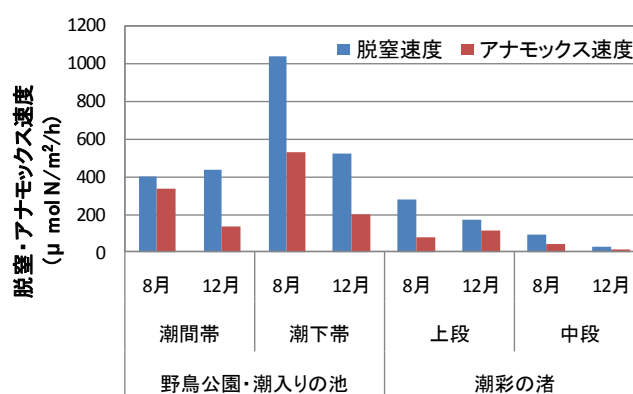


図 3 脱窒・アナモックス速度

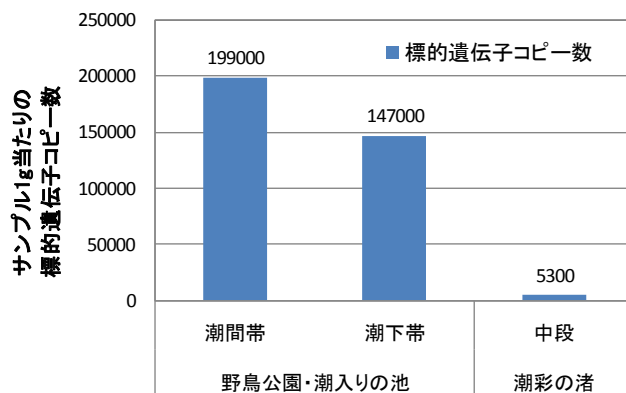


図 4 サンプル 1g 当たりの標的遺伝子のコピー数

参考文献

- 1) Risgaard-Petersen et al. : Application of the isotope pairing technique in sediments where anammox and denitrification coexist, Limnol Oceanogr Meth 1, p63-73, 2003.