

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目：基盤研究（A）  
 研究期間：2006～2009  
 課題番号：18201005  
 研究課題名（和文） 硝酸態窒素を蓄積するイオウ酸化細菌による堆積物からの硫化物の溶出抑制機構  
 研究課題名（英文） Prevention of hydrogen sulfide release from sediment by nitrate accumulating sulfur oxidizing bacteria  
 研究代表者  
 左山 幹雄  
 産業技術総合研究所・環境管理技術研究部門・主任研究員  
 研究者番号：20344145

研究分野：生物地球化学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：硫化物・堆積物・イオウ酸化細菌・硝酸態窒素・青潮

## 1. 研究計画の概要

富栄養化が進行し底層水の貧酸素化が進行している東京湾の堆積物表層には、細胞内に硝酸態窒素 ( $\text{NO}_3^-$ ) を高濃度に蓄積するイオウ酸化細菌 (Nitrate Accumulating Sulfur Oxidizing Bacteria, NA-SOB) が、広範囲にわたり高密度に生息している。本研究では、NA-SOB による堆積物からの溶存硫化物 ( $\Sigma \text{H}_2\text{S}$ ) の溶出抑制機構を定量的に解明することを目的として、青潮が頻発している東京湾を対象海域として、現場調査及び培養実験系により以下の研究を行う。

## (1) 現場調査

①NA-SOB の動態と堆積物からの  $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  の溶出との関係

②NA-SOB と Fe 循環との関係

## (2) 培養実験系

①  $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  の溶出に対する NA-SOB の影響の解析② NA-SOB による  $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  の酸化過程の解析

③ NA-SOB が Fe 循環に与える影響の解析

④ Intracellular- $\text{NO}_3^-$  の代謝過程の解析

(3) NA-SOB を組み込んだ物質代謝数理モデルの開発

## 2. 研究の進捗状況

【方法】東京湾湾央部水深 20 m 地点において採取した未攪乱堆積物コアを疑似現場環境下で培養し、微小電極を用いて堆積物表層の  $\Sigma \text{H}_2\text{S}$ 、pH 及び  $\text{O}_2$  の鉛直濃度プロファイルを測定した。また未攪乱堆積物コアを鉛直方向に層別分取し、 $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  濃度、形態別の鉄濃度、細胞内に  $\text{NO}_3^-$  を蓄積するイオウ酸化細菌 (NA-SOB) の菌体量、間隙水中の  $\text{NO}_3^-$  濃度、NA-SOB の細胞内に蓄積されている  $\text{NO}_3^-$  濃度の鉛直プロファイルを測定した。形態別の鉄濃

度は、未攪乱堆積物コアを嫌気グローブボックス内で層別分取し、間隙水中に溶存している  $\text{Fe}^{2+}$  ( $\text{PW-Fe}^{2+}$ )、 $\text{CaCl}_2$  で抽出される  $\text{Fe}(\text{II})$  ( $\text{CaCl}_2\text{-Fe}(\text{II})$ ) 及び  $\text{Fe}(\text{III})$  ( $\text{CaCl}_2\text{-Fe}(\text{III})$ )、アスコルビン酸で抽出される  $\text{Fe}(\text{III})$  ( $\text{Asc-Fe}(\text{III})$ )、塩酸で抽出される  $\text{Fe}(\text{II})$  ( $\text{HCl-Fe}(\text{II})$ ) 及び  $\text{Fe}(\text{III})$  ( $\text{HCl-Fe}(\text{III})$ )、シュウ酸で抽出される  $\text{Fe}(\text{II})$  ( $\text{Oxa-Fe}(\text{II})$ ) 及び  $\text{Fe}(\text{III})$  ( $\text{Oxa-Fe}(\text{III})$ )、及び亜ジチオン酸で抽出される  $\text{Fe}(\text{III})$  ( $\text{Dit-Fe}(\text{III})$ ) について測定した。調査は、季節変化を明らかにするために 1~2 ヶ月に 1 回の頻度で行い、約 2 年間に渡り継続して行った。

【成果】堆積物表層の  $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  が存在していない層の深さ (Depth of Sulfide Free Zone, DSFZ) は、底層水が著しく貧酸素化していた 7 月中旬には  $0.3 \pm 0.3 \text{ mm}$  と薄かった。底層水が完全に無酸素化していた 8 月下旬には DSFZ は検出限界以下であり、 $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  は堆積物表面直下から増加していた。底層水への酸素の供給が回復した 10 月下旬には、DSFZ は  $2.0 \pm 0.6 \text{ mm}$  まで厚くなり、11 月下旬には  $10.8 \pm 1.8 \text{ mm}$ 、2 月中旬には  $26.1 \pm 4.0 \text{ mm}$  まで厚くなった。植物プランクトンの春のブルームにより多量の有機物が堆積物表層に沈降・堆積し、底層水の貧酸素化が始まった 4 月中旬には、DSFZ は検出限界以下であり、 $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  は堆積物表面直下から増加していた。

底層水の酸素濃度の季節変化に対応して、堆積物表層の  $\text{O}_2$  が存在している層 (Oxygen Penetration Depth, OPD) の深さも顕著な季節変化を示した。7 月中旬の OPD は、 $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  が検出されるようになる深さ (DSFZ) よりも深く、 $\Sigma \text{H}_2\text{S}$  の主たる酸化過程はイオウ酸化細菌 (NA-SOB) による  $\text{O}_2$  及び  $\text{NO}_3^-$  を用いた生物

学的酸化であると考えられた。8月下旬のOPDは検出限界以下であり、 $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ は堆積物表面直下から増加していたが、 $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ の溶出フラックスは検出限界以下であった。この結果は、8月下旬においても何らかの $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構が機能していたことを示している。10月下旬のOPDはDSFZよりも浅く、 $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構には $\text{O}_2$ は直接は関与していないことを示していた。11月下旬及び2月中旬のOPDとDSFZには大きな隔たりがあり、 $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構として $\text{O}_2$ が直接は関与していない過程が活発に機能していることを示していた。4月中旬のOPDは、 $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ が検出されるようになる深さ(DSFZ)よりも深く、 $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ の主たる酸化過程はNA-SOBではないイオウ酸化細菌による $\text{O}_2$ を用いた生物学的酸化であると考えられた。

以上の結果、及び形態別の鉄濃度、NA-SOBの菌体量とその細胞内に蓄積されている $\text{NO}_3^-$ 濃度の鉛直プロファイル等の季節変化から、東京湾湾央部水深20m地点の堆積物表層における $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ の溶出抑制機構として、以下の過程が考えられた。7月中旬は、イオウ酸化細菌(NA-SOB)による $\text{O}_2$ 及び $\text{NO}_3^-$ を用いた生物学的酸化が主要な $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構であると考えられた。8月下旬は、堆積物表層の $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 酸化能力は極めて低く、偶然的な $\text{O}_2$ 及びFe(III)の供給により $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ の溶出が抑制されていると考えられた。10月下旬は、NA-SOBによる $\text{NO}_3^-$ を用いた生物学的酸化が主要な $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構であると考えられた。11月下旬は、NA-SOB及びFe(III)ではない、これまで未知の過程が主要な $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構であると考えられた。2月中旬は、Fe(III)(Oxa-Fe(III)及びAsc-Fe(III))による化学的酸化(固定)が主要な $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構であると考えられた。4月中旬は、NA-SOBではないイオウ酸化細菌による $\text{O}_2$ を用いた生物学的酸化が主要な $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構であると考えられた。

また、東京湾湾央部水深20m地点より採取した堆積物を用いて培養実験系構築し、NA-SOB・ $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ ・Fe(III)の相互関係について実験的解析を行った。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

当初に計画した研究計画の大部分を遂行しており、さらにこれまで未知であると考えられる $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構が東京湾湾央部水深20m地点で重要な役割を果たしている可能性を発見しており(論文投稿中)、研究目的は順調に達成していると考えている。

### 4. 今後の研究の推進方策

NA-SOBによる $\text{NO}_3^-$ を用いた生物学的酸化が主要な $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ 溶出抑制機構であると考えられ

る、10月下旬の東京湾湾央部水深20m地点の環境を対象に、NA-SOBを組み込んだ物質代謝数理モデルを開発し仮説の検証を行う。

### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文](計3件)

(1) 井上 徹教、中村 由行、左山 幹雄 (2009) ADVを用いた底面境界層における流動観測、水工学論文集, 53-, pp.1405-1410、査読有

(2) Inoue, A., Y. Nakamura, M. Sayama (2008) Flow Velocity Measurement in the Benthic Boundary Layer by Acoustic Doppler Velocimeter, Journal of atmospheric and oceanic technology, 25-5, pp.822-830、査読有

(3) 左山 幹雄 (2007) 有明海泥質干潟堆積物における現場脱窒活性、海洋と生物, 29-6, pp.544-561、査読無

[学会発表](計16件)

(1) Nielsen, L. P., N. Risgaard-Petersen, H. Fossing, P. B. Christensen, M. Sayama (2008) Electric currents in marine sediment, 12th International Society for Microbial Ecology Conference, Cairns, Australia, 2008/08/2

(2) Sayama, M. (2006) Interactions between Beggiatoa and Environments: Results from field investigation and experiments, Invitational Seminar Series at the Max Planck Institute for Marine Microbiology, Bremen, 2006/11/16

(3) Sayama, M. (2006) Importance of nitrate accumulating Beggiatoa as biological barrier against sulfide emission from sediment to water in eutrophicated coastal marine environments, International Symposium on Research and Management of Eutrophication in Coastal Ecosystems, Nyborg, Denmark, 2006/06/20

(4) Sayama, M. (2006) Alternative biological mechanism by nitrate accumulating Beggiatoa for creating and maintaining sulfide free anoxic zone in eutrophicated coastal marine sediments, 11th International symposium on microbial ecology, Vienna, Austria, 2006/08/21

(5) Sayama, M. (2006) SEASONAL STUDY ON BEGGIATOIA IN TOKYO BAY, 2nd Workshop on Big Sulfur Bacteria, Aarhus, Denmark, 2006/11/08