

浅海域の微生物学的研究—Ⅲ

底質中の有機炭素・溶存酸素消費量・有機酸および
硫化物の消長と有機栄養細菌との関係

藤田 雄二・谷口 忠敬・銭谷 武平

Microbiological Studies on Shallow Marine Areas-Ⅲ
On Relation of the Heterotrophic Bacteria to the Changes
in Organic Carbon, Oxygen Consumption, Organic Acid and
Sulfides in the Mud Sediment

Yuji FUJITA, Tadataka TANIGUTI and Buhei ZENITANI

Periodical observations were made to see the relation between the changes in bacterial population and in organic carbon, oxygen consumption, organic acid and total sulfide in the mud sediment, and pearl farm was compared with other stations. The results obtained are as follows :

1. Among various constituents of mud sediment, the change in amount of sulfide was characteristic : it was accumulated in early stage with the rising of water temperature but it decreased later. The variation in concentration of organic acid was relatively remarkable during the period of sulfide-accumulation, but, generally, it showed a trend of increase in the latter part of the period.
2. There were higher counts of aerobic bacteria, sulfate-reducing bacteria and other heterotrophic bacteria, and also more amount of sulfide in the sediment of pearl farm than in those of other stations. The constituents of sediment in pearl farm may be considerably influenced by the biodeposition of fecal pellets of pearl-mother shells.
3. Lower water layers containing little or no dissolved oxygen occur in the central area of this bay in summer. It seems due to the fact that the dissolved oxygen is consumed by heterotrophic bacteria and / or reducing substances in a process of decomposition of easily oxidizable organic matter such as dead planktonic organisms under the stagnation of water mass.

緒 言

先に、浅海底質中の有機栄養細菌群が、プランクトン発生後の時期には、各種多糖類の分解能をもつ菌群で構成されていることを示した¹⁾。すなわち、沈降・堆積プランクトン類は、その組成によって、例えば甲殻類のキチンのように、特異成分を含むが、それぞれの成分の分解能をもつ有機栄養細菌群が、選択的あるいは適応的に優先増殖し、次第に遷

移しつつ遺が成分を無機化して行くものと考えられる。そこで、これら細菌の活性が底質成分の変化にどのような影響を与えるかを知りたいと考え、分解産物として有機酸、硫化物の変化を主とし、これに関与する有機栄養細菌の関係をしらべて見た。

試験対象とした大村湾は、北部の狭い海峡を通じて、南部に長く広がった浅海盆である。湾内の主要産業は真珠養殖で、最近伊勢湾などでは、漁場の老化が叫ばれているが、この湾では、まださほど強調されてはいないようである。しかし、当然考慮すべき問題であり、各種要因による底質の変化は重視せねばならない。一方、湾奥部は、夏季成層しやすく、無酸素層の出現、赤潮の発生など、底質微生物の作用が、直接あるいは間接に影響していることも推測される。

今回は、先ず底質変化の実状を知るために、野外の観測を実施した。すなわち、真珠養殖期間中におきる底質成分の変化過程を、他の定点と比較追跡し、同時に各有機栄養細菌群の菌数を測定した。

その結果、堆積泥土の温度上昇と共に、硫化物の集積期に入り、続いてその減少期になり、特に真珠漁場では母貝排せつ物に由来する有機物の蓄積のためか、硫化物変化が著しいことなどを知った。また、湾中央部の無酸素層の成因について、細菌学的考察を行なったので、併せてこれらの結果について報告する。

実 験 方 法

1. 観測定点および時期

大村湾南部水域の長与浦を中心として、次の4定点 (Fig. 1) について、観測を行なっ

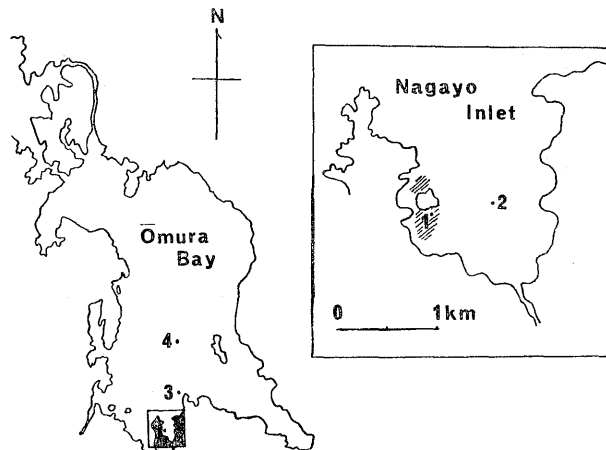


Fig. 1 Locations of routine collecting stations in Omura Bay. Shadow; pearl farm.

た。定点1と2は、長与浦内に位置しており、定点1は平均水深約6mで真珠漁場内にあり、また定点2は平均水深約10mで、長与川の流入の影響を直接にうけると推定される地点である。定点3と4は、平均水深約19~20mで、定点3は堂崎鼻の先端から20~30mの地点で、浦の先端にあたり、また定点4は大村湾の湾央に位置し、両定点は共に河川の流

入など陸上の影響をほとんどうけないものと思われる。

観測は1966年5月30日から、同年10月17日までの間に、定期的に10回行なった。

2. 底質・海水試料の採取

底質試料は、柱状採泥器を用いて採泥し、底質表面から約5cmの深さまでの試料を実験に供した。各試料は、採泥後に氷蔵(約5°C以下)し、実験室に持ち帰り、きょう雑物を除いてから、直ちに細菌数を測定した。残りの試料は、硫化物の逸散を防ぐために、アルカリ性とし、-20°Cに凍結貯蔵し、逐次分析を行なった。また、海水はハイロート採水器を用いて無菌的に採取した。

観測期間中、採取泥はいずれも黒灰色で、その間硫化水素臭を放ち黒色化するような著しい変化を認めなかった。定点1と2の泥は、粒子の小さい粘泥(腐軟泥質)の状態を呈し、一方定点3と4のものは軟泥質ではあるが、前者より僅かに粒子が大きいようであった。泥質の水分含有量は、定点1と2のものは56~58%、定点3と4が平均して71.5%で、底質の状態に違いがうかがわれた。

3. 底質成分の分析法

(1) 有機炭素量：浅海の硫化物含有泥土の、有機炭素の定量に、チューリン法は必ずしも正確な方法ではないが、測定の簡便なためこの方法を採用した。

(2) 溶存酸素消費量²⁾：湿泥2.5gを300mlの酸素瓶に採取し、溶存酸素既知の貯蔵海水で満たし、密栓して十分に混和した後、20°Cに5日間静置した。上澄液中の酸素量をウインクラー法によって測定した。

(3) 有機酸量：三好らの方法³⁾に準じて測定したが、抽出は24時間1回とした。

(4) 全硫化物：富山・神崎の方法⁴⁾によった。その他、海水中の溶存酸素量などは、一般常法にしたがった。

4. 細菌数の測定

生菌数測定用の試料の調製は、畑氏の方法⁵⁾にしたがった。各細菌数は5段階希釈・各列3本接種の最確数法によって計数した。一般好気性細菌はZoBELL 2216E培地、また一般嫌気性菌数は、前記培地にL-アスコルビン酸ソーダ0.012%と寒天0.3%を加えて半流動状にした重層培地を、それぞれ使用して測定した。底質中のアンモニア生成菌・硝酸塩還元菌およびデンプン分解菌はZoBELL & MORITA⁶⁾の方法にしたがって菌数を測定した。硫酸還元細菌数の測定は畑氏⁵⁾の培地を用いた。各細菌数は、25°C7日間培養の結果を基に計数した。

結果と考察

1. 底質中の有機炭素・溶存酸素消費・有機酸および全硫化物量の変化

これらの結果はFig. 2に示した。有機炭素は、漁場内の定点1では、水温上昇と共に増加し、後半になると幾分減少の傾向を示す。これらの傾向は、多少の差異はあったが、全般的には同じようであった。

底質の溶存酸素消費量は、定点1は水温上昇と共に増加の傾向を示し、定点2では高温期の消長が著しく、後半に向かって増加する。定点3と4では、全期間を通じてその消長が著しい。これは、おそらく定点1の有機物が母貝排せつ物の堆積によるものであり、また

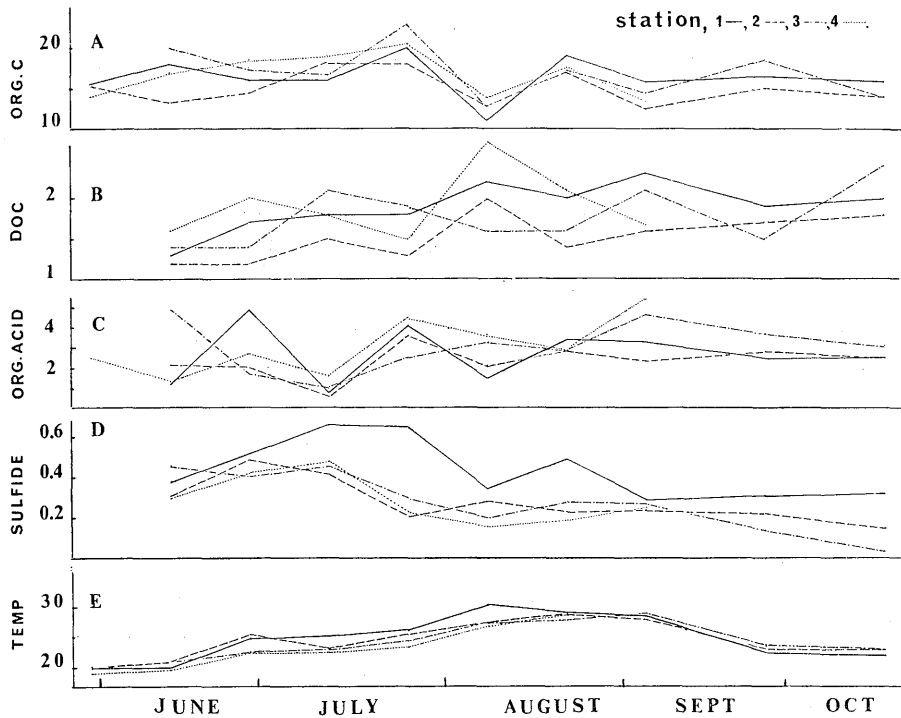


Fig. 2 Variation in the constituent of mud sediment.

A—Organic carbon, C mg per g. dry mud.

B—Dissolved oxygen consumption (DOC), O₂ mg per g. dry mud.

C—Organic acid, 0.01 N NaOH ml per 10g dry mud.

D—Total sulfide, S mg per g. dry mud.

E—Water temperature, °C. 1 m over bottom.

他の定点のそれは、プランクトンの遺がいなどの易分解性有機物が支配的であると思われる。

泥質からの有機酸の遊離・分解については、著者の谷口⁷⁾が既に室内実験の例を示した。野外観測の有機酸生成量は、各定点ともに、その消長が非常に著しいが、後半になると、比較的に高い値で安定化の傾向を示している。有機酸の定量には、完全抽出を行っていないので、三好ら⁸⁾の結果からみると、おそらく測定値は絶対量の1/2以下だろうと思われる。有機酸生成がかなり活発に行なわれていると思われる。

一方、底質中の硫化物の変化は、各定点とも傾向は同じであるが、漁場（定点1）においては、特異的に量的変化が激しい。有機酸の生成と硫化物の減少は、一見逆の対応が見られるようである。

以上4点の傾向から見て、6月から7月にかけての硫化物の集積期と、つづいて減少期があり、おそらく後半減少期には硫化水素の水層への遊離・拡散が考えられるが、この点については更に検討が必要である。

測定した底質成分の相互の関係を見ると、有機炭素と集積硫化物の間には高い相関 ($r = 0.63$) が認められた。しかし有機酸は生成・消散などの変化が多いので、有機炭素や溶存酸素消費量とは高い相関を示さなかった。

次に、観測期間中の定点別の各成分の平均値を用いて、乾物重量あるいは柱泥容量を基準として比較図示すると Fig. 3 のようである。乾物基準では、有機炭素は各点とも余り

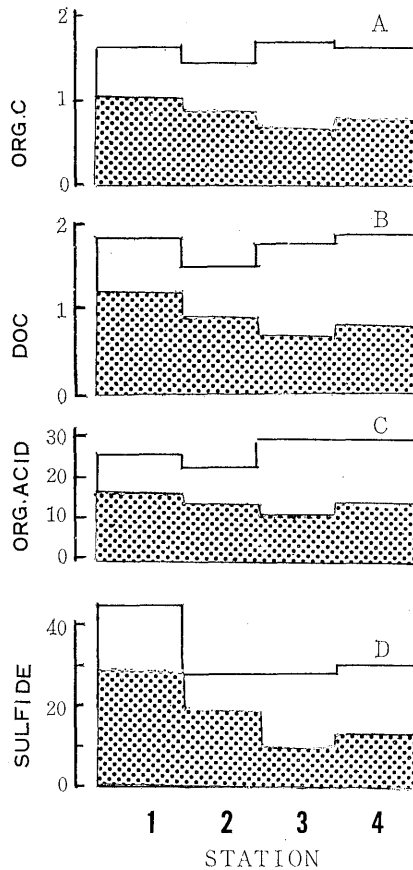


Fig. 3 Comparison of the average value of chemical constituents at each station.

A—Organic carbon, %. B—Dissolved oxygen consumption, O_2 mg.
C—Organic acid, 0.01 N NaOH ml. D—Total sulfide, Smg. White ;
per 100g dry mud, grey ; per 100 ml wet mud.

差がなく1.5—1.7%で、溶存酸素消費は定点2が幾分低く、他定点は1.8—1.9mg/gであった。有機酸は、沖合定点3と4が、定点1と2よりも、むしろ高かった。硫化物は、漁場定点1が最も多く、0.04%以上であった。大村湾北部の漁場底質では、有機炭素が特に多いとは認められず、しかし硫化物が概して多いと言う森井ら⁹⁾の結果と同じ傾向であるが、測定値は低かった。一方、柱泥容量で比較すると、微生物の生活環境としては一層実状に則している訳であるが、真珠漁場が他の定点に対していずれも有意差を示し、特に硫化物が多いことは、漁場の特性の一面を示すものと思われる。

2. 有機栄養細菌類の消長

底質成分の変化に関係すると思われる一般好・嫌気性細菌、硫酸還元細菌の菌数の時期的消長を示すと Fig. 4 のようである。水温上昇と共に、一般好気性細菌は増加の傾向を

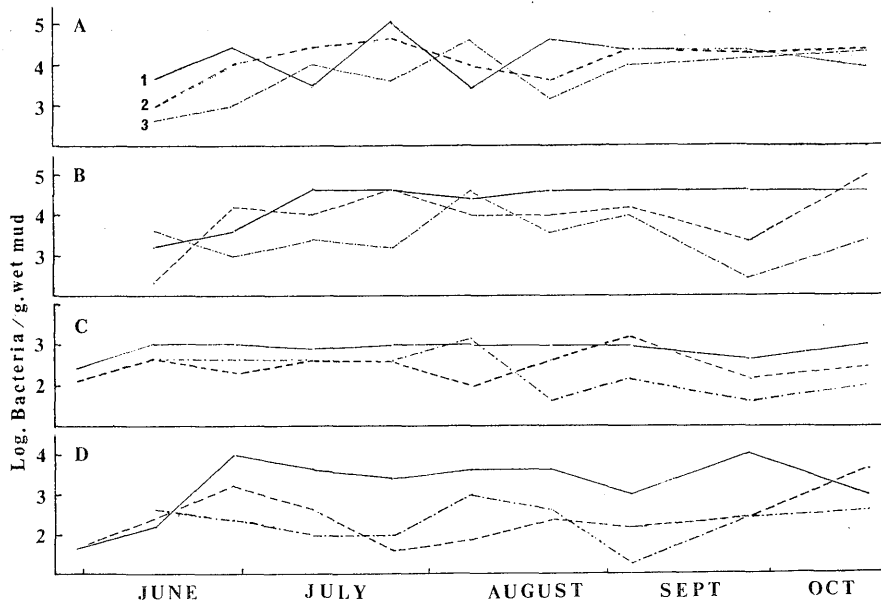


Fig. 4 Variations in the population of heterotrophic bacteria in the sample of mud.

A—Aerobic bacteria (ZoBELL 2216 E medium).

B—Aerobic bacteria (Starch nitrate medium).

C—Anaerobic bacteria.

D—Sulfate reducing bacteria.

示し、高温期には比較的消長が著しいが、水温低下と共に平衡を保っているようである。これは有機炭素や有機酸の変化と類似の傾向である。

漁場では、一般嫌気性細菌や硫酸還元細菌数に、著しい変動はない。殊に嫌気性細菌数は、ほぼ一定で水温 25°C 以上の期間は、硫酸還元細菌数が他定点よりもかなり高いのが注目される。

漁場外の定点においては、一般嫌気性細菌は、漁場ほど平衡を保っていないが、比較的安定しており、これに反し硫酸還元細菌は消長が認められた。

アンモニア生成・硝酸塩還元およびデンプン分解細菌数の変化は、一般好気性細菌のそれと比較すると、全期間を通じて高温期の変動は少なかった。前者の菌数は、後者とほぼ同じ傾向の消長を示した (ZoBELL 2216E 培地菌数とデンプン・硝酸塩培地菌数の相関は $r=0.57$)。

全菌数について、生理作用別に各定点の平均値で比較すると、Fig. 5 のようで、漁場が常に多く、沖合に向かうに従って漸次少なくなっている。なかでも、注目するのは、硫酸還元細菌数においては、漁場と他の定点と著しい差のあることで、全硫化物と同じ傾向である。また漁場は概して、アンモニア生成・デンプン分解・硝酸還元細菌が多い。これらのことは、漁場では、好気～通性嫌気性のアンモニア生成細菌が優占していることを示すものと思われる。

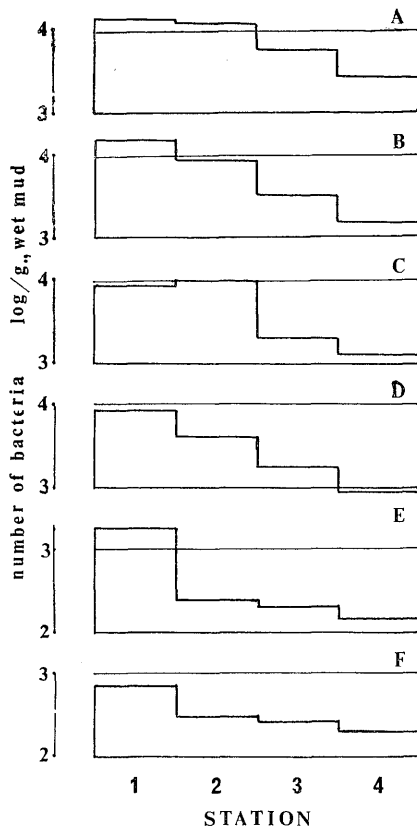


Fig. 5 Comparison of the average value of bacterial population in mud sediment at each station.

A—Aerobic bacteria (ZoBELL 2216 E medium). B—Ammonifier.
C—Nitrate reducer. D—Starch splitter. E—Sulfate reducer.
F—Anaerobic bacteria.

3. 底質成分と有機栄養細菌との関係

有機物と有機栄養細菌の関係を見ると、有機炭素と一般好気性細菌の間では、かなり高い相関 ($r=0.72$) があり、各定点の有機物の消長が好気性細菌による可利用有機物によって支配されていると推定される。アンモニア生成菌数・デンプン分解菌数の比率が、高い傾向を示すことから、底質中の有機物が腐敗・発酵に近い過程で分解されているものと思われ、この傾向は漁場が最も顕著である。一方、硫化物と硫酸還元細菌数の関係を見ると、全試料では $r=0.49$ となるが、硫化物が集積する前半期は高い相関 ($r=0.86$) が認められた (Fig. 6)。おそらく硫酸還元細菌数から見て、後半でも硫化物の生成が行なわれているけれども、その蓄積を見ないためと考えられる。この原因としては、微生物活性に基づく有機酸、 CO_2 、 H_2S の生成による pH 低下、硫化水素捕足金属イオンの不足や、あるいは硫黄細菌による利用などが、単独あるいは同時的に作用しているものと推察されるが、今後の研究に俟ちたい。このことに関し、畑氏⁵⁾も天然の硫酸還元細菌数の分布と集積硫化物量との間に、関係が少ない場合もあることを指摘している。

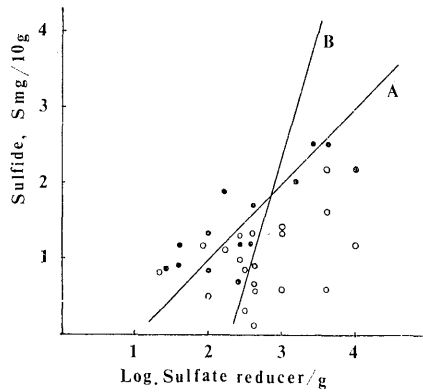


Fig. 6 Correlation between the number of sulfate reducing bacteria and the total sulfide in mud sediment. Solid circles: former period, open circles; latter period. A—Former period, $r=0.86$. B—Total period, $r=0.49$.

4. 真珠漁場底質における有機栄養細菌数の変化と有機物の関係

漁場底質は、柱泥容量で比較した場合、硫化物や有機物がかなり多かった。有機物の微生物による利用性を見るために、泥質の溶存酸素消費量に対する有機炭素の比を、各定点について比較すると Fig. 7 のようである。利用性が高い程、比は相対的に大となる。定

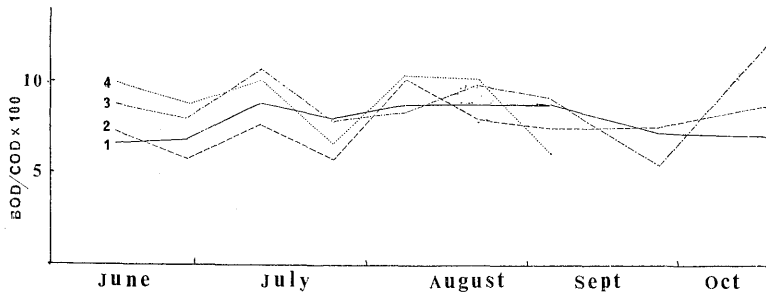


Fig. 7 Variation of the ratio of organic carbon (COD) to dissolved oxygen consumption (BOD) in mud sediment at each station.

点1・2・3および4の平均値は、それぞれ7.8, 7.6, 8.9および8.9となり、沖合定点の有機物の方が利用性が高いことは有機酸生成量の多い事実とも関連している。

漁場の有機物比の時期的消長を見ると、ほぼ水温 25°C 以上の期間中は、ほとんど一定値を示し、組成に余り差異がない。この期間は、真珠母貝の発育が旺盛な時期に相当し、プランクトンが集約消化された糞の蓄積によるものと想像される。一方、他定点のそれはプランクトンの遷移に伴ない、沈下遺がいの分解がくりかえし行なわれていることを示していると思われる。

前述の如く、漁場では有機栄養細菌が多いが、その変動は比較的になかった。一般嫌気性細菌が、ほぼ一定値を示していることは、還元電位を保っていることを示し、水温 25°C を越える頃から硫酸還元細菌が増加してくる。これと前後して、他の細菌群も増加

し、 $10^{4-5}/g$ で動的な平衡状態を保っている。この傾向は9月下旬まで持続する。概してアンモニア生成の腐敗細菌が多く、母貝排せつ物の未消化物が、腐敗細菌によって絶えず分解されているものと思われる。

5. 湾中央部の無酸素層形成についての細菌学的考察

この湾では、大規模な海底無酸素化現象が、水産被害の一つにあげられ、湾中央部あるいは湾奥に、貧・無酸素の水塊が夏季底層付近に例年出現⁹⁾する。

観測期間中、底層無酸素状態には遭遇しなかったが、定点3と4において貧酸素状態の海底水層を観測したので、細菌数の変化との関係について考察する。

定点4の観測結果は Fig. 8 のようで、湾南部では夏季に成層形成が推定されており、

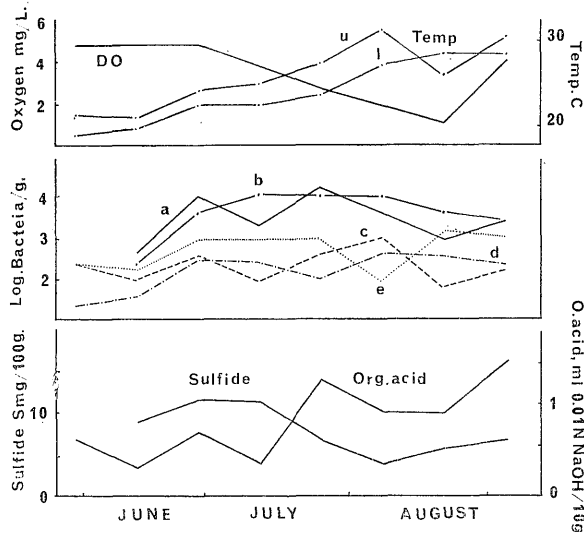


Fig. 8 Relation of heterotrophic bacteria in mud and seawater to the development of anoxic layer in the central part (Station 4) of the bay.
 DO...Dissolved oxygen. Temp....u : upper layer seawater, l : lower layer seawater.
 Bacteria ; a ...aerobic bacteria growing in ZoBELL 2216 E medium, b ...aerobic bacteria growing in starch nitrate medium, c ...anaerobic bacteria, d ...sulfate reducing bacteria. a~d : in the mud sediment ; e ...aerobic bacteria, growing in ZoBELL 2216 E medium, in seawater at 1 m over bottom.

この定点一帯は夏季成層状態にあるものと見なしてよい。水温が上昇し、底質中の細菌数が $10^4/g$ に達する頃から、酸素の減少が始まり、この状態が持続し、溶存酸素は最低 1 ml/L に減少した。底質中の細菌数が増加するにしたがって、後半には次第に有機酸が蓄積される傾向にある。一方好気性細菌の増加に伴い、呼吸のために溶存酸素が消費され還元電位が低くなり、かつ硫酸還元細菌が増加し、集積硫化物が増加する。しかし、後半の減少については先に述べたとおりである。

溶存酸素は、有機物の酸化分解や、遊離硫化水素の酸化のために消費され、次第に無酸素化に向かうものと思われ、底層でもっとも活発に行なわれるが、この間の変化については更に詳細な検討が必要である。

有機栄養細菌が、このような活発な作用を営むためには、分解基質として有機物が必要で、これは主にプランクトン遺骸か主体であることは、有機酸量や Fig 7 に示した有機物の比の経過からもうかがわれる。これらの結果は、辻田¹⁰⁾の説を細菌学的に裏付けたことになる。

このように考えると、底質堆積物の分解による無酸素層の生成は、赤潮発生とは無関係におきるものであるが、一方硫化水素などが、赤潮プランクトンの増殖を促進するとすれば、赤潮発生を誘発することもあり得る。すなわち無酸素層形成につれて、集積硫化物の減少期、換言すれば硫化水素遊離期に入る。有機物や硫化物の濃度が高い所では、硫黄細菌、藍藻、硅藻の発生の遷移がおきるが、これらの過程は硫化水素の濃度によって制御されるから¹¹⁾、この時期における底質の微生物活性による赤潮プランクトンへの栄養因子供給と環境条件が、赤潮発生に大きな影響を与えるものではないであろう。

また、このような例年見られる無酸素層とは違った急激な無酸素層の発達や、多量の硫化水素の発生には、それ以前に死滅しやすい、易分解性プランクトンの異常多量発生による二次的有機物の導入なしには理解しにくい。

要 約

大村湾内の底質成分および有機栄養細菌の変化を、真珠漁場底質と比較追跡し、次のような結果を得た。

- 1) 底質成分変化のうちで、最も特徴的なものは、硫化物の消長で、水温上昇と共に硫化物が集積するか、後半では減少する。硫化物集積期は、有機酸の消長が著しいか、硫化物減少期は増加の傾向を示す。
- 2) 有機物の豊富な所は、一般細菌や硫酸還元細菌も多く、かつ硫化物の集積も多い。この傾向は、漁場で最も顕著である。漁場では、母貝排せつ物に由来する有機物が、底質変化に大きな影響を及ぼしていると思われる。
- 3) 湾中央部における無酸素層の成因は、水温上昇による成層発達と、プランクトン遺骸の酸化分解などによる酸素消費によるものと考えられる。

終りに、この研究は、文部省科学研究費による。なお熱心に協力された黒川孝雄・富成征二両君に謝意を表します。

文 献

- 1) 谷口・藤田・銭谷 本誌, **21**, 243~249 (1966)
- 2) 松江吉行編 水質汚濁調査指針 P 192 (1962)
- 3) 三好・白井・門田 日水誌, **28**, 534~547 (1962)
- 4) 富山・神崎 日水誌, **17**, 115~121 (1951)
富山・小川 日水誌, **18**, 687~690 (1953)
- 5) 畑 幸彦 水産大学校研究報告, **14** (2), 37~83 (1965)
- 6) ZoBell, C E, and R Y MORITA *J Bact*, **73**, 563~568 (1957)
- 7) 谷口忠敬 本誌, **19**, 91~99 (1965)
- 8) 森井・金津・福原 本誌, **19**, 74~80 (1965)
- 9) 森・入江 本誌, **21**, 103~114 (1966)
- 10) 辻田時美 日海誌, **9** (1), 23~32 (1953)
- 11) Wood, E J F *The Marine Microbial Ecology* P 182 (1965)