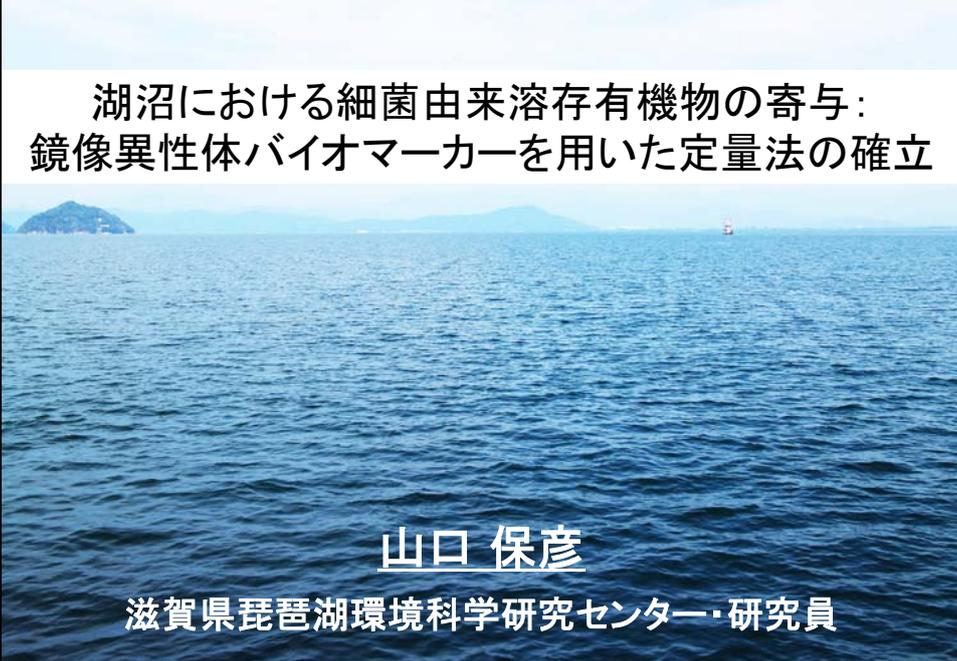


令和元年度および令和2年度 水質保全研究助成 成果報告会 (2021.3.18)

湖沼における細菌由来溶存有機物の寄与： 鏡像異性体バイオマーカーを用いた定量法の確立



山口 保彦
滋賀県琵琶湖環境科学研究センター・研究員

背景：湖沼の溶存有機物の生成源？

・溶存有機物(DOM)は、湖の物質循環、生態系、水質に重要な役割を果たしているが、生成源にはまだ謎が多い

・琵琶湖では過去数十年間で、栄養塩やBODは減少して水質改善傾向な一方で、CODは高止まり

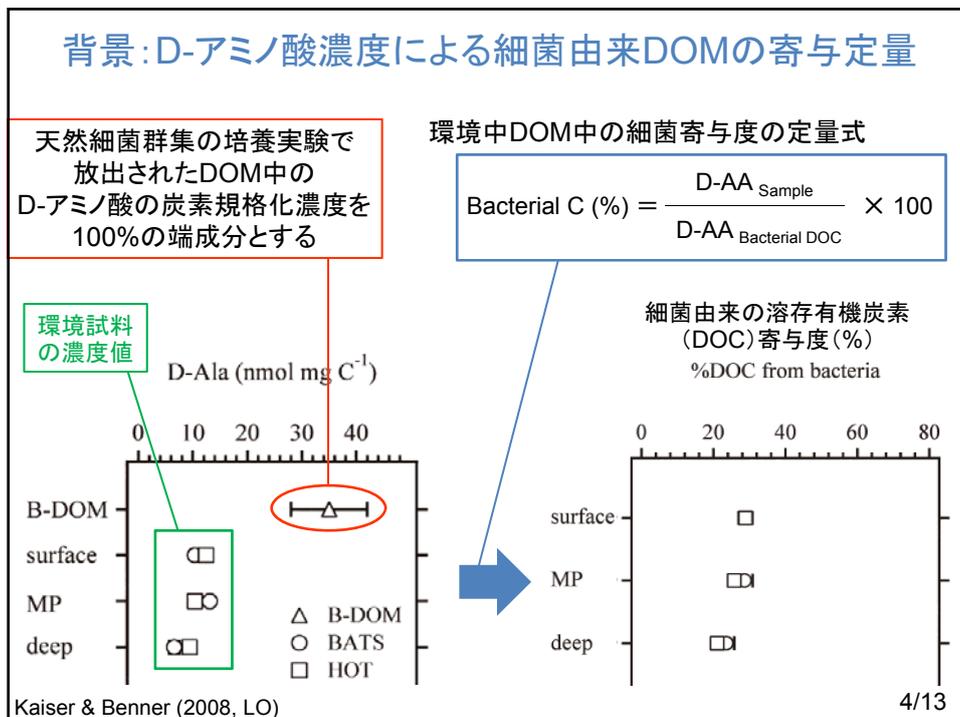
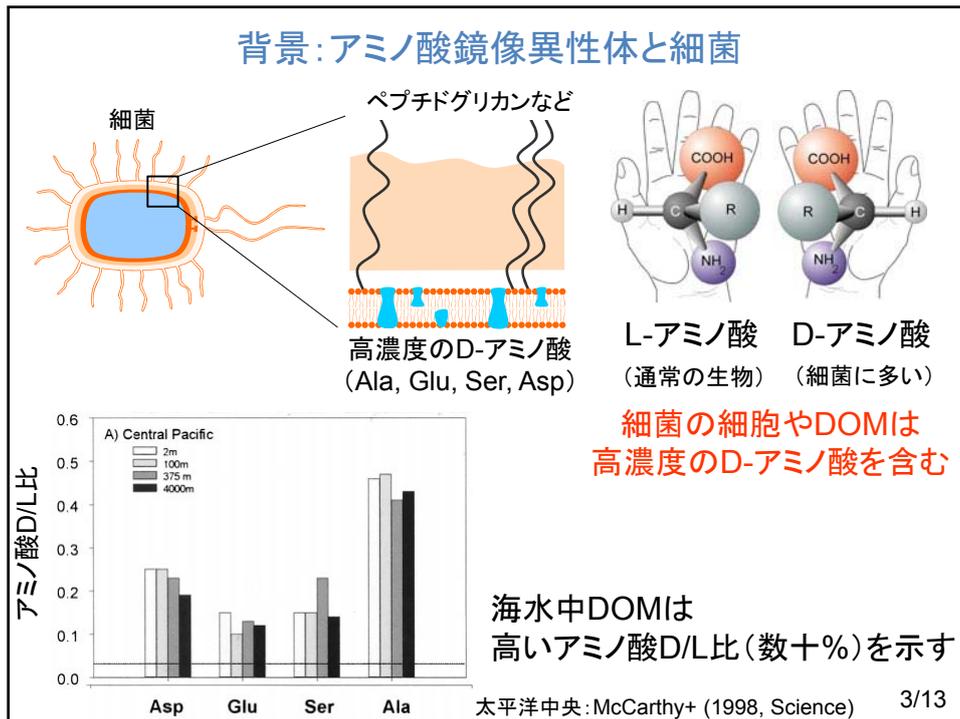
➡ 生物が使いにくい難分解性DOMが、湖水に蓄積している？

・海洋では、過去四半世紀の研究で、細菌による難分解性DOMの生産(微生物炭素ポンプ)の重要性が明らかになってきた

e.g., Tanoue+ (1995); McCarthy+ (1998); Fuhrman (1999); Ogawa+ (2001); Kaiser & Benner (2008); Yamaguchi & McCarthy (2018); etc..

・湖沼など陸水環境では、海洋に比べてデータが限定的

➡ 湖沼では細菌由来DOMはどのくらい重要なのか？



先行研究と本研究の目的

淡水湖沼DOMの先行研究(唯一)

Kawasaki+ (2013, AEM)

- ・霞ヶ浦DOMに、高濃度のD-アミノ酸を検出
- ・問題点：湖沼細菌DOMの端成分が不明で、細菌寄与度の定量に課題
湖水濾過法の課題
HPLC蛍光法によるD-アミノ酸同定の課題

本研究の目的

1. 「D-アミノ酸バイオマーカーを用いたDOM中の細菌成分寄与度定量法」を、湖沼環境に適切に応用できるように改良する
 - A. 湖水濾過法、GC-MSIによる分析手法の検討・改良
 - B. 琵琶湖の天然細菌を用いた培養実験で、端成分を制約
2. 琵琶湖DOM(難分解&準易分解)中の細菌由来成分の寄与を定量して、微生物炭素ポンプの重要性を調べる

5/13

1年目の成果と2年目の目的

1年目の成果

- ・分析法を確立して、琵琶湖湖水に高濃度のD-アミノ酸を検出
- ・培養実験から、湖沼細菌DOMの端成分を制約
- ・天然DOMの深度・季節分布から、分解性別にDOMへの細菌寄与度を推定

1年目の課題

- ・深層湖水は難分解性DOMを代表できるか？
- ・河川など湖外部からの流入の影響は？
- ・細菌由来DOMは、どのくらいの生分解性か？

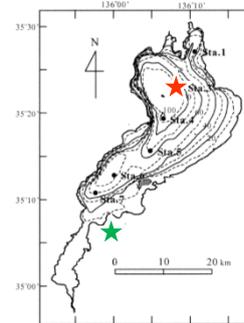
2年目の目的

- ・琵琶湖水と琵琶湖流入河川水のDOMについて、長期生分解実験を行い、DOM中D-アミノ酸濃度の変化を追跡
- ・細菌由来DOMの生分解性と外部からの流入について知見を得る

6/13

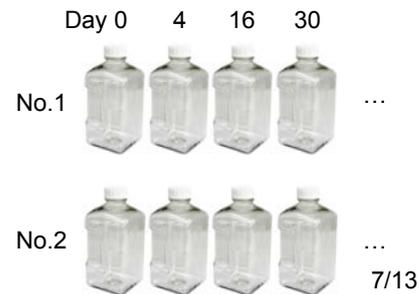
試料：湖水・河川水の生分解実験

- 試料採取：
湖水：琵琶湖北湖17B地点の水深5m (2018年8月)
河川水：野洲川下流・服部大橋 (2019年8月)



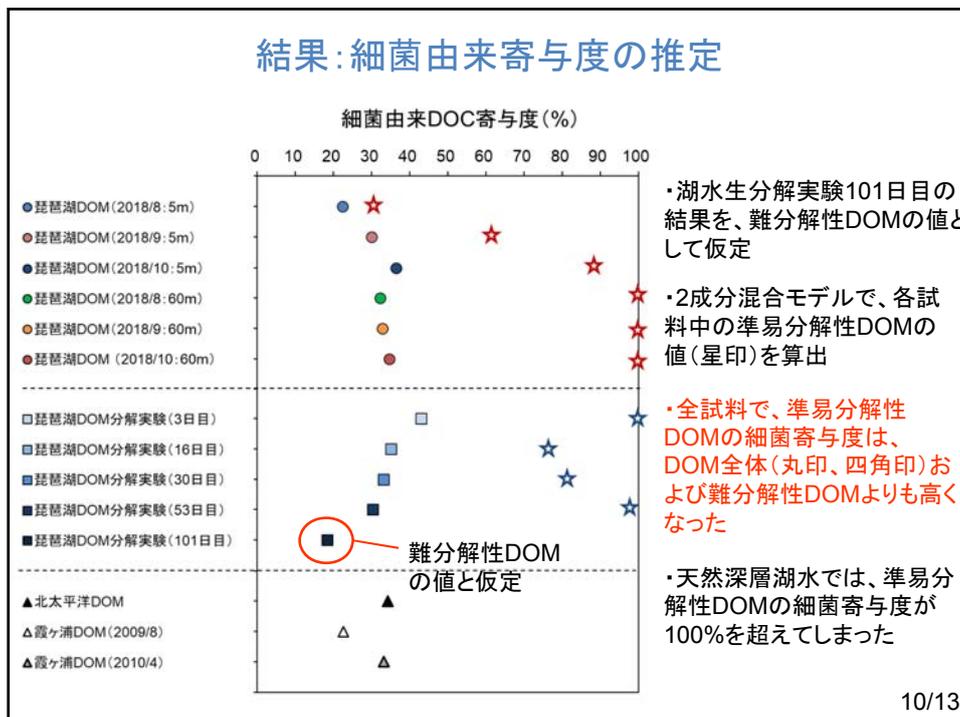
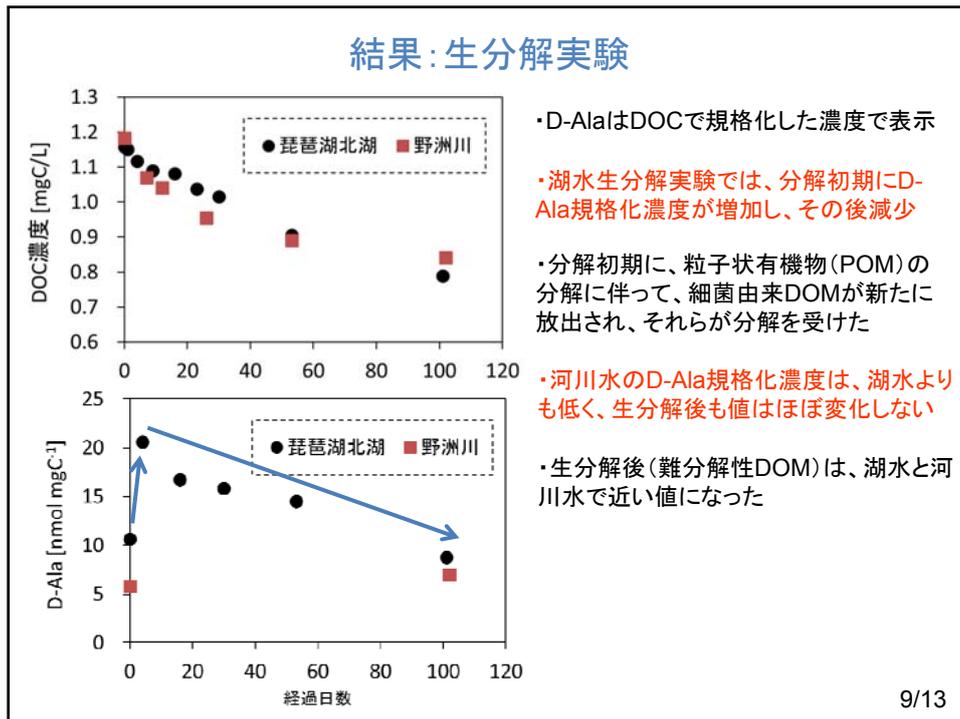
- 分解実験：
試料をプランクトンネット(孔径150 μm)で濾過
→2L Nalgene容器に入れ、20°C暗条件振盪(2連)
→各経過日数で容器を取り出し
→0.7 μmおよび0.2 μmの二段階濾過

- D-アミノ酸分析の経過日数：
湖水：4, 16, 30, 53, 101日目
河川水：102日目



手法：GC-MSIによるアミノ酸D/L比分析





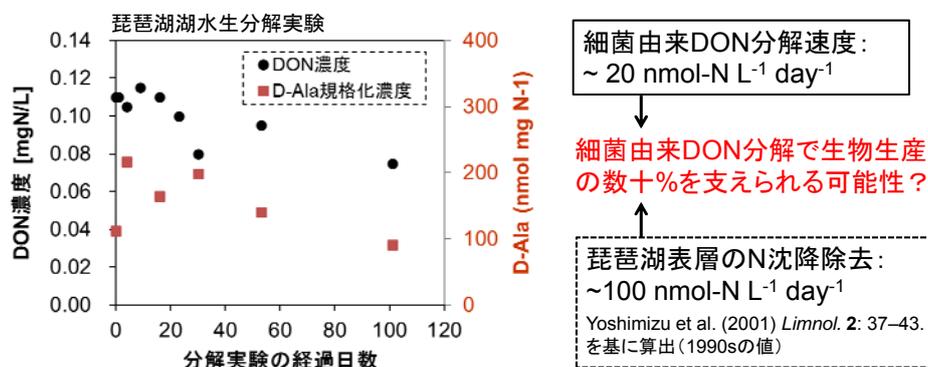
考察：琵琶湖湖水DOMの起源

- ・生分解実験の結果、琵琶湖湖水の難分解性DOMでは、細菌寄与度は20%程度
- ・湖水の難分解性DOMは、D-Ala規格化濃度が河川水DOMと近い値になり、**湖水難分解性DOMに河川水DOMが大きく寄与していても矛盾しない**
→他のアミノ酸指標などで、今後さらに制約が必要
- ・琵琶湖成層期深水層の天然DOMは、難分解性DOMを代表できない
→**表層からの沈降粒子により、深水層で生成される細菌由来DOMの影響？**
→深水層DOMの生分解実験などで、今後さらに研究が必要
- ・琵琶湖表層の天然DOMで、8月→9-10月で細菌寄与度が増加したのは、湖水生分解実験での分解初期での細菌寄与度増加と同じ挙動
→**夏季表層の藻類由来DOMが、秋にかけて細菌由来DOMに置き換わる？**
→栄養塩等の環境要因が、細菌由来DOMの生成に与える影響について、今後さらに研究が必要

11/13

考察：栄養源としての細菌由来DOM

- ・細菌由来DOMには、難分解性DOMだけでなく、準易分解性DOMも多く含まれる
- ・湖水の準易分解性DOMの数%は細菌由来
- ・準易分解性DOMの分解は、栄養塩(窒素・リン)を環境中に放出するため、**細菌由来DOMが、湖の栄養塩動態に大きな役割を果たしている可能性がある**



まとめ

1. 本研究2年間による成果

- ・GC-MS分析法、0.2 μm濾過、微生物培養実験、生分解実験などにより、**D-アミノ酸分析から湖DOM中の細菌寄与度を見積もるアプローチを新たに確立**
- ・中栄養～貧栄養湖では世界初の、DOM中D-アミノ酸のデータ
- ・D-Alaから計算した細菌寄与度は、琵琶湖北湖の難分解性DOMで20%程度、準易分解性DOMでは30～100%
- ・**細菌由来DOMは、難分解性DOMだけでなく、準易分解性DOMの起源として重要で、湖の栄養塩動態に重要である可能性**

2. 今後の展望

- ・様々な季節・深度の琵琶湖湖水の生分解実験を行い、D-アミノ酸分析
- ・DOMを分子サイズ等に基づき分画して、D-アミノ酸分析
- ・多種類のD-アミノ酸指標の比較

13/13