

ゲルについては、物理的強度の大きいものが製造され、市販されていたが、親水性のゲルについては十分に満足できるものは得られていなかった。近年熊本大学工学部合成化学科本里研究室によってポリビニルアルコール及びセルロースを素材として、従来のものより物理的、化学的強度に優れ、真の球状をした親水性ゲル沪過材が開発された。これらのゲル沪過材はタンパク質、核酸、酵素など生体高分子物質に対する吸着がほとんど見られず、生化学領域における物質分離に理想的なゲル沪過材としての性質を有している。ゲルクロマトグラフィーの特徴は、①操作が簡単である、②溶離液の組成や温度の影響はほとんど受けない、③非常に温和な条件で操作できるので、不安定な化合物でもほとんど分解する危険がない、④材質が安定ならば何回でも繰返し使用できることである。今後ゲルクロマトグラフィーは、バイオテクノロジー分野で生産される化合物、分子集合体、蛋白質、細胞、菌体などの研究用及び工業用分離・精製に広く利用され発展していくと考えられる。

# 水域の自浄作用

## —従属栄養細菌の働き—

近藤満雄

九州産業大学工学部教授  
工学博士

川や湖や海等の自然水域では、水中微生物(浮遊微生物)、付着微生物、底質微生物が、流入する様々な有機物を分解し、無害な無機物に変え、栄養塩類を酸化または還元し、除去し、良好な水環境の保持に貢献している。これら微生物は、水域の自浄作用の中心的役割を果たしている。ここでは紙面の都合上、水域の従属栄養微生物の働きをまとめてみよう。

自然水域の微生物活性の測定では、従来の化学分析法の感度が低いため、自然環境で見られる濃度より数桁高い濃度の有機物が用いられてきた。濃度は微生物による取り込みや分解の速度に大きな影響を及ぼす。その上、長時間にわたって微生物を閉じ込める、微生物社会の構成が変わるばかりでなく、微生物の数や代謝活性が増大する。このような変化が生じるため、従来の化学分析法では、自然環境での正確な微生物活性を測定することが困難であった。<sup>(1)</sup>

ところが、<sup>14</sup>C または <sup>3</sup>H で標識した有機物を用いると、検出感度が飛躍的に高まるため、最も貧栄養水域でも、従属栄養細菌による有機物の取り込みまたは分解を測定できる。<sup>(2)</sup>

水域の微生物活性を測定するのに二通りの方法がある。これらの方法は放射性同位元素で標識した有機基質の取り込みまたは分解を測定するものである。1つ(単一濃度法)は一定の濃度の基質を用い、基質の取り込みまたは分解の速度を求める方法である。2つ(多重濃度法)は、加える基質濃度を変え、潜在的な最大基質利用速度( $V_{max}$ )を求める方法である。この方法の利点は、選択した濃度範囲が自然水域の濃度範囲に近い場合は、 $V_{max}$ は用いた基質濃度には無関係になることがある。しかし、この方法は多数の測定試料が必

要な上、相当複雑な計算をしなければならず、時間と手間がかかり過ぎて、広範囲な自然水域の研究には不適である。<sup>(3)</sup>

富栄養的または汚染された水域の微生物の有機基質交代時間の二つの方法による差は小さなものに過ぎないが、貧栄養的な水域では<sup>(4)</sup>その差は大きい。

細菌活性の低い水域、すなわち貧栄養的な水域では、全従属栄養微生物群による有機物の取り込みは必ずしもミカエリス・メンテンの式に従わない。様々な種類の微生物の入り混じった大きな微生物群では、取り込み特性が異なってくるためと考えられる。様々な種類の微生物から構成されている微生物群では、ラインウィーバー・パーク直線は低い基質濃度で直線から外れ、X 軸方向へカーブする。<sup>(4)</sup>

高濃度の粒子状物質が含まれる沼や河口では、粒子状物質に結合した細菌——エピバクテリアが非付着性細菌よりはるかに多い。その他の場合は、エピバクテリアの数や生物量は非付着性細菌より少ない。エピバクテリアによる有機物の取り込みは、沖合や開放的な海洋では、非付着性細菌に比べて低く(全グルコース同化量の10%以下)、それと対照的に塩沼では大きい(同じく80%以上)。<sup>(5)</sup>

砂やデトリタスの微生物による酸素の取り込み速度は、砂やデトリタス粒子の直径に逆比例する。また酸素取り込み量の対数は、粒子の有機物含量の対数に正比例する。細菌は砂やデトリタス粒子の表面の僅か数%を被っているに過ぎない。<sup>(6)</sup>

溪流では多数の従属栄養細菌が、岩や石等の固体表面上に付着した光栄養微生物群と密接に連係しており、また付着層内の細菌は藻類が分泌する有機物を利用している。亜高山

帶の渓流では、付着細菌は数の上で優勢であるばかりでなく、浮遊細菌群よりずっと活発に水中の有機物を除去している。付着微生物群は、渓流の自浄作用で重要な役割を果たしており、藻類と細菌間の栄養物の交換は貧栄養淡水系微生物群の特徴である。<sup>(7)</sup> 固体表面への微生物の付着は、付着層水の界面への有機物の輸送と吸着に応じて生じると考えられる。付着後、光栄養微生物群は光合成した有機物の生成と排出を通じて、栄養物に富む微小区域を作る。この微小区域に留まる能力を持つお陰で、細菌はさもなくば、生存に適さない環境でさえも増殖できるようになる。栄養物の乏しい水環境では、 $2 \sim 200 \text{ cm}^2/\text{ml}$  の表面積/体積の表面は、細菌の生育や呼吸を促進する。<sup>(8)</sup>

腐植物質は自然環境中に広く分布しており、水中の人工合成有機物の光分解を促進する。<sup>(9)</sup> 自然界に存在する腐植物質の1つフルビック酸は、微生物による人工合成有機物の分解を促進する。<sup>(9)</sup> 川の微生物群によるリグニンとセルロースの分解は、無機窒素( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ )の添加によって非常に促進されるが、グルコースの添加は逆に抑制する。<sup>(10)</sup>

水域の微生物は、特異的な官能基や特異的な大きさの溶存有機物を水中から選択的に取り込む。水溶性有機物を一定期間連続して川に加えると、他の水溶性有機物に対する微生物の取り込み感受性に影響を与え、また微生物の従属栄養活性を増大させる。<sup>(11)</sup>

人工合成有機物の最大取り込み速度( $V_{\max}$ )で比較すると、川が最大で、湾は川よりやや低く、海洋は冬季を除き、川や湾よりずっと低い。川や湾の代謝速度は、水温が低下する季節に非常に低下する。海洋の代謝速度は年間

を通じてかなり安定している。<sup>(12)</sup>

淡水や海の生態系では、従属栄養細菌が植物プランクトンによって固定された有機性炭素の50%を処理している。<sup>(13)</sup>

海水の表面層には高密度の従属栄養細菌が存在する。<sup>(14)(15)</sup> 水深が増すとともに、一般的に細菌数が減少するが、水深と細菌密度の関係はかなり複雑である。<sup>(15)</sup> 海の微生物の有機物取り込み活性は海水表面が最大で、水深が増すとともに低下する。<sup>(15)</sup> 分解される有機物の割合も、水深が増すとともに減少する。<sup>(15)</sup> 全細菌に占める活性菌の割合は、水深が増すとともに低下する。<sup>(14)(15)</sup>

代謝活性を示す細菌の割合は、海の環境で<sup>(16)</sup> 4~61%、淡水環境で5~36%である。

沿岸水域の底質——水の界面は水系で最も微生物活性の高い領域である。<sup>(15)</sup> 底質表面は微生物活性の高い場所である。<sup>(17)</sup> 底質微生物の有機物取り込み活性は、底質の底質表面からの深さが増すとともに低下する。<sup>(18)</sup> 底質——水の界面の微生物の有機物取り込み活性は、底質に接する水層の微生物活性よりも数倍高く、すぐ直下の底質の微生物活性よりも2倍高い。<sup>(15)</sup> 底質は非常に高い密度の微生物群を有し、高い従属栄養活性を示す。

浅い湖の底質表面の生きている細菌数は、水中や底質深部より多い。<sup>(20)</sup> 底質——水の界面の微生物群は、相当大きな栄養物の添加に対して素早く対応することができ、また何回も繰り返される栄養物の添加に対応できる。<sup>(20)</sup>

自然水域の細菌は、栄養物の欠乏した飢餓条件に適応して休眠し、利用できる有機栄養物の量を反映した可逆的な生理状態で、ある未知な期間生きながらえている。<sup>(2)</sup>

海の細菌の大部分は飢餓条件下におかれ

と、細菌の大きさが急速に減少する。親水性の細菌は、水中より固体表面に存在する方が、また疎水性の細菌は固体表面より水中に存在する方が大きさは急速に減少する。<sup>(21)</sup> 貧栄養条件下で小さな細菌が作られるのは、生き残るための適切な戦略と考えられる。飢餓状態の細菌が飢餓の最初の数時間内に主要な再構成を行う。再構成後、細菌は体積を45~70%減少させ、エネルギー消費を45%減少させる。細菌数は80%増加し、表面積/体積比は55%増大する。細菌はそれでもなお100%が生存している。細菌内の糖ペプチド量は非常に減少し、<sup>(21)</sup> 菌の付着性が増大する。

海の細菌群は低濃度の栄養物を要求する微生物群(低K<sub>s</sub>細菌)と、高濃度の栄養物を要求する微生物群(高K<sub>s</sub>細菌)を含む可能性が強<sup>(22)</sup> い。

水域の微生物は、二種の異なった取り込み機構で有機物を取り込む。低い基質濃度での取り込み(0~500μgグルコース/l)は、ミカエリス・メンテンの式に従い、細菌由来のものである。高い基質濃度での取り込み(0.5~4.0 mgグルコース/l)は単純な拡散方程式に従い、<sup>(23)</sup> 藻類由来のものである。

海の溶存有機物濃度が最も低いのは、貧栄養海域の海水層で1mg/l以下で、最も高いのは富栄養海域の空気——海水界面で3g/lに達するものがある。<sup>(22)</sup>

海洋の水に含まれるグルコース濃度は、<sup>(23)</sup> 13.3~35.6μg/lである。溶存グルコース濃度が最も高い水域が微生物のグルコース取り込み速度の最も小さな水域である。<sup>(24)</sup> 細菌は、取り込んだグルコースの50%以上を直ちに分解する。<sup>(25)</sup>

溶存アミノ酸は、生産性の高い沿岸海域で約

100nM、大洋の表面水域で30nM存在する。溶存アミノ酸濃度は、一般的に水深とともに減少し、大洋の光の届かない水深で検出限界(10 nM)<sup>(26)</sup> 以下になる。開放的大洋では、アミノ酸濃度は沿岸域の1/10である。カリフォルニア沖の海水中には、主要なアミノ酸として、セリン、リジン、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩、アラニンが含まれており、個々のアミノ酸濃度は0.05~3μg/l、総アミノ酸濃度は1.8~8.5μg/l、海水中の従属栄養細菌による個々のアミノ酸取り込み速度は0.05~1.2μg/l/dayで、取り込み速度の大きい順にセリン、アスパラギン酸塩、アラニン、グルタミン酸塩となる。海の浮遊細菌の水溶性アミノ酸交代速度は、生産性の高い海で4.9/day、<sup>(26)</sup> 生産性の低い大洋で1.3/dayである。<sup>(26)</sup> アミノ酸交代時間は、生産性の最も高い地点の水深5mで2.4日、生産性の最も低い地点の水深250mで130日である。<sup>(26)</sup> アミノ酸は従属栄養細菌の生体分子の合成材料やエネルギー源となる。海の微生物は、取り込んだアミノ酸の80~90%を生体分子の合成に使用し、10~20%をエネルギー源とする。<sup>(26)</sup> 海の付着細菌は、浮遊細菌よりアミノ酸同化活性が高く、また付着後剥離した細菌は、付着菌より活性が低い。<sup>(27)</sup> ミカエリス・メンテンの式から求めた、海水の微生物のアミノ酸取り込み速度論パラメータ V<sub>max</sub>, K<sub>t+Sn</sub>、細菌数、細菌1個当たりのV<sub>max</sub>は光の届く浅海で最大となり、大洋の光の届く水深で中位、大洋の光の届かない水深で最小である。

太陽スペクトルの紫外線のB成分(280~320nm)ばかりでなく、もっと長波長の紫外線や可視光の照射は、海の細菌によるアミノ酸<sup>(28)</sup> の取り込みを阻害する。

ジペプチドは細菌によるアミノ酸取り込みを非拮抗的に阻害するが、総取り込み量に対する分解量の比は変らない。<sup>(13)</sup> ジペプチドや小さなペプチドはアミノ酸輸送系とは異なる取り込み系で細菌内に輸送される。細胞質膜を通過すると、ペプチドは細胞内ペプチダーゼによって素早く分解され、その結果細胞内アミノ酸プールのアミノ酸は増加する。

#### ●参考文献

- (1) F.K.Pfaender and G.W.Batholomew, Appl. Environ. Microbiol. 44(1982):159
- (2) R.T.Wright, Appl. Environ. Microbiol. 36(1978):297
- (3) R.P.Griffiths, S.S.Hayasaka, T.M. Menamara, and R.Y. Morita, Appl. Environ. Microbiol. 34(1977):801
- (4) K.Gocke, Mar. Biol. 42(1977):131
- (5) D.Kirchman and R.Mitchell, Appl. Environ. Microbiol. 43(1982):200
- (6) B.T.Hargrave, Limnol. Oceanogr. 17(1972):583
- (7) T.K.Haack and G.A.Mcfeters, Appl. Environ. Microbiol. 43(1982):702
- (8) A.S.Gordon, S.M.Gerchakov, and F.J.Millero, Appl. Environ. Microbiol. 45(1983):411
- (9) D.Liu, J.Carey, and K.Thomson, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 31(1983):203
- (10) N.G.Aumen, P.J.Bottomley, G.M.Ward, and S.V.Gregroy, Appl. Environ. Microbiol. 46(1983):1409
- (11) L.A.Kaplan and T.L.Boll, Freshwater Biol. 13(1983):363
- (12) G.W.Bartholomew and F.K.Pfaender, Appl. Environ. Microbiol. 45(1983):103
- (13) D.Kirchman and R.Hodson, Appl. Environ. Microbiol. 47(1984):624
- (14) C.Peroni and O.Lavarello, Mar. Biol. 30(1975):37
- (15) J.A.Novitsky, Appl. Environ. Microbiol. 45(1983):1753
- (16) R.J.Dutton, G.Bitton, and B.Koopman, Appl. Environ. Microbiol. 46(1983):1263
- (17) D.F.Toerien and B.Cavari, Appl. Environ. Microbiol. 43(1982):1
- (18) G.M.King and M.J.Klug, Appl. Environ. Microbiol. 44(1982):1308
- (19) M.J.Harrison, R.T.Wright, and R.Y. Morita, Appl. Microbiol. 21(1971):698
- (20) J.A.Novitsky, Appl. Environ. Microbiol. 45(1983):1761
- (21) B.Humphrey, S.Kjelleberg, and K.C. Marshall, Appl. Environ. Microbiol. 45(1983):43
- (22) M.Baxter and J.M.Sieburth, Appl. Environ. Microbiol. 47(1984):31
- (23) M.Takahashi and S.Ichimura, Mar. Biol. 11(1971):206
- (24) L.A.Meyer-Reil, Mar. Biol. 44(1978):293
- (25) J.E.Hobbie and C.C.Crawford, Limnol. Oceanogr. 14(1969):528
- (26) R.L.Ferguson and W.G.Sunda, Limnol. Oceanogr. 29(1984):258
- (27) J.J.Bright and M.Fletcher, Appl. Environ. Microbiol. 45(1983):818
- (28) C.A.Bailey, R.A.Neihof, and P.S. Tabor, Appl. Environ. Microbiol. 46(1983):44