

低窒素施用水田土壌での脱窒細菌接種によるイネ生育促進効果:

イネ栽培調査と根域土壌細菌叢解析

迫田 翠¹, 水澤 舞花¹, 塩津 文隆², 郭 永¹, 坂上 伸生¹,

滝本 貴弘³, 増富 祐司¹, 藤原 徹⁴, 妹尾 啓史^{4,5}, 西澤 智康¹

¹茨城大学農学部, ²明治大学農学部, ³茨城大学地球変動適応科学研究機関,

⁴東京大学大学院農学生命科学研究科, ⁵東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構

キーワード: 窒素循環, 食糧生産, 生育促進, イネ, 土壌細菌群集

抄録

農耕地への窒素肥料の大量投入は河川や湖沼の富栄養化を引き起こしており, 水系の窒素汚染を防ぐために施肥量の低減が求められる。水田土壌から分離された脱窒細菌 *Azoarcus* 属 KH32C 株をイネ種子に接種すると, 室内実験系において窒素欠乏条件下でイネ初期生育を促進させた。本研究では, KH32C 株を接種したイネを窒素無施肥水田圃場で栽培し, イネの生育およびイネ根域土壌細菌群集への影響を調査した。土壌窒素・炭素量の異なる 2 つの無施肥水田で品種の異なるイネを栽培したところ, KH32C 株の接種により低窒素・炭素量の水田土壌で日本晴の初期生育が促進された。さらに, 日本晴の玄米中の亜鉛含有量が増加した。一方, イネ根域土壌細菌のメタゲノム解析から, KH32C 株の接種は日本晴根域土壌の細菌群集構造に影響を与えたことが示された。窒素肥料低投入の圃場において, KH32C 株の微生物資材としての利用が期待される。

1. はじめに

窒素は, 絶えず形態を変化させながら地球上を循環している。土壌中の微生物は, 窒素固定, 硝化, 脱窒, 異化的硝酸還元などの反応を通し, 窒素循環の一部を担っている^[1]。農耕地では, 作物の生産性の向上のために窒素肥料が大量に投入されているが, 一部は作物に吸収されず流出し, 河川や湖沼の富栄養化を引き起こす。過剰な窒素肥料の使用による環境への負荷を憂慮し, 窒素肥料の施用量の削減が求められるが, 作物の生産性の低下が問題となる。

熊本県の田畑輪換水田土壌から, N₂O を強力に還元する脱窒細菌 *Azoarcus* 属 KH32C 株が分離された^[2]。KH32C 株の全ゲノム解読の解析から, 脱窒に関わる遺伝子群のほか, 窒素固定や莢膜多糖合成に関わる遺伝子クラスターが見出され, 植物と相互作用する可能性が示された^[3]。先行研究において, KH32C 株をイネ (日本晴) 種子に接種し, 窒素欠乏寒天プレート上で栽培したところ, イネの初期生育が促進された。

本研究では, 窒素無施肥水田圃場で KH32C 株を接種したイネを栽培し, イネ生育調査およびその根域土壌細菌群集に及ぼす影響を調査した。

2. 方法

2015 年および 2017 年に, 茨城大学農学部附属国際フィールド農学センター内に設置した 2 つの無施肥水

田圃場でイネ栽培を実施した。

発芽したイネ種子 (日本晴, タカナリ, IR64, コシヒカリ (2017 年のみ)) を KH32C 株懸濁液に 10 分間浸漬し, 接種とした。KH32C 株接種 (接種区) と未接種 (対照区) のイネ種子は, 育苗後, 無施肥水田圃場に移植した。生育初期, 幼穂形成期, 収穫期にイネおよびイネ根域土壌を採取した。2017 年には, 加えて穂揃い期にイネ根域土壌を採取した。

採取した生育初期, 幼穂形成期のイネは乾燥重量を測定し, 生育速度を算出した。収穫期に採取したイネの玄米は, 窒素・炭素量の分析およびエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置を用いた無機元素の半定量的な分析を行った。

イネ根域土壌は, 全窒素 (TN) 量および全炭素 (TC) 量を測定した。また, 土壌 DNA を抽出し, 細菌の 16S rRNA 遺伝子を標的とした末端制限断片長多型解析 (T-RFLP) を行った。得られた T-RFs プロファイルに基づき, クラスター解析を行った。2015 年の日本晴のサンプルでは Miseq のメタアンプリコンシーケンス解析も併せて行った。得られた配列は, 97% の相同性で操作的分類単位 (OTU) に分類し, 細菌群集の多様性解析および帰属分類群の推定を行った。また, 非計量多次元尺度構成法 (NMDS) および Heatmap による細菌群の動態解析を行った。各 OTU の代表配列は植物生育促進

細菌 (PGPB) データベース¹⁴⁾と比較してその相対存在量を推定した。

3. 結果

イネ根域土壌の TN 量は、2015 年は 4.54-5.63 g/kg だったのに対し、2017 年では 5.25-5.67 g/kg で、2015 年が 2017 年より低かった。TC 量についても同様の傾向がみられ、2015 年は 51.44-62.38 g/kg、2017 年は 65.35-68.17 g/kg だった。

イネの生育速度は、日本晴は 2015 年の生育初期と幼穂形成期でそれぞれ接種区が対照区の 1.9 倍、1.7 倍に増加し、2017 年では 1.3 倍、1.0 倍であった (図 1)。コシヒカリでは 2017 年の生育初期と幼穂形成期で接種区は対照区のそれぞれ 0.5 倍、0.7 倍であった。タカナリは 2015 年の生育初期、IR64 では 2017 年の幼穂形成期において、接種区で対照区より生育スピードが減少した。玄米中の元素の大半で KH32C 株の接種による有意な差はみられなかった。一部の元素は KH32C 株の接種により有意に増減したが、2015 年と 2017 年で共通して有意に増減する元素はなかった。KH32C 株の接種によって、玄米中の亜鉛含有量は、2015 年では日本晴とタカナリで有意に増加 (共に 30%) し、2017 年では日本晴で 10% 程度増加した。また、日本晴の銅含有量は 2015 年および 2017 年で約 10% 増加した。

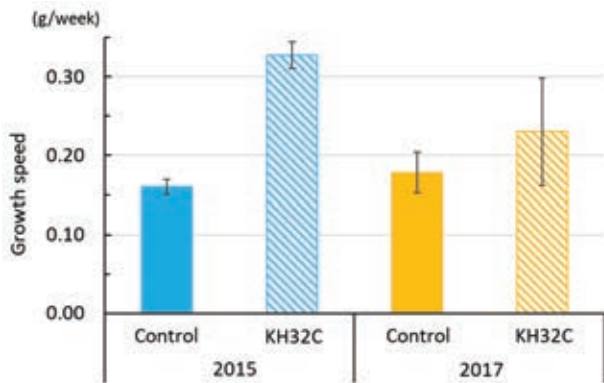


図 1. 生育初期の日本晴の生育速度

T-RFs プロファイルに基づくイネ根域土壌細菌群集のクラスター解析の結果、2015 年の生育初期において接種区の細菌群集構造が品種間で類似した。2017 年では、日本晴の根域土壌細菌群集は生育期間を通して接種区で類似する傾向にあった (図 2) が、他の品種でその傾向はみられなかった。メタアンプリコンシーケンス解析の結果、2015 年の日本晴根域の土壌細菌群集の多様性はイネの生育段階により推移 (表 1) し、門レベルの群集構造は Proteobacteria 門と Acidobacteria 門が優占した。NMDS 解析の結果、細菌群集構造は生育段階で類似するが、同じ生育段階でも KH32C 株の接種の

有無で異なった (図 3)。Heatmap 解析の結果、Alphaproteobacteria 綱の細菌群集動態は接種区と対照区で異なり、接種区では科レベルにおいて相対存在量が漸減した。推定された PGPB の相対存在量は接種区で増加し、特に生育初期で顕著で、インドール-3-酢酸生産細菌は 35% 増加した。推定された PGPB は Alphaproteobacteria 綱が優占した。

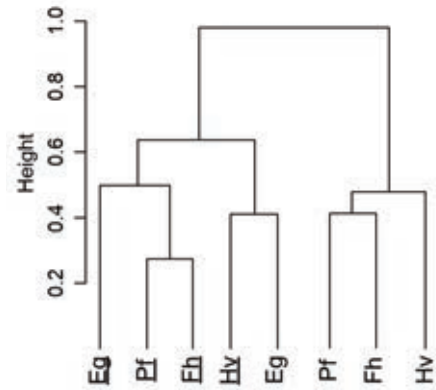


図 2. T-RFs プロファイルに基づく日本晴根域の土壌細菌群集のクラスター解析。下線は KH32C 株接種区を示す。Eg, 生育初期; Pf, 幼穂形成期; Fh, 穂揃い期; Hv, 収穫期。

表 1. メタアンプリコンシーケンスに基づく日本晴根域土壌細菌群集の多様性解析。

	Control			KH32C-inoculation		
	Eg	Pf	Hv	Eg	Pf	Hv
Shannon index	7.48	7.32	7.67	7.42	7.36	7.62
ACE	11752	8354	13407	11503	7879	13020
Evenness	0.92	0.91	0.93	0.91	0.92	0.93

Eg, 生育初期; Pf, 幼穂形成期; Hv, 収穫期。

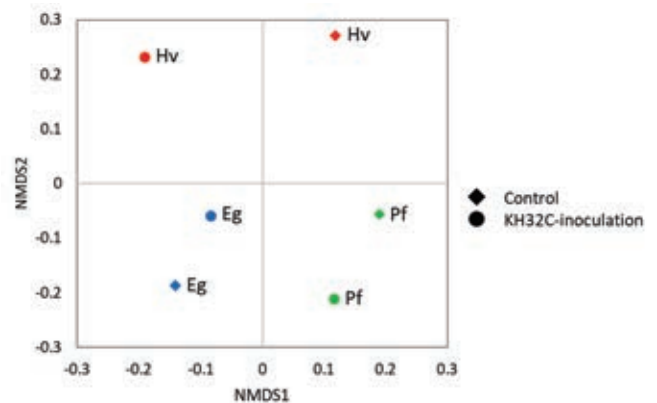


図 3. メタアンプリコンシーケンスに基づく日本晴根域土壌細菌群集の NMDS 解析。Eg, 生育初期; Pf, 幼穂形成期; Hv, 収穫期。

4. 考察

KH32C 株をイネ種子に接種し窒素無施肥水田圃場で栽培したところ、日本晴で生育促進効果がみられ、KH32C 株の接種によるイネ生育促進効果はイネの品種に特異的であることが示された。イネの窒素吸収量や窒素利用効率(収量/窒素吸収量)は、イネの品種(遺伝子型)によって異なることが知られている^[5,6]。また、窒素施肥量の増加に伴いイネの窒素利用効率は減少することが報告されている^[6]。土壌 TN・TC 量の低い条件において、KH32C 株の日本晴種子への接種による生育促進効果がみられた(図 1)。

大気 CO₂濃度の上昇により、コメの亜鉛、鉄含有量が低下することが近年報告された^[7]。現在、世界の 31%もの人々が亜鉛欠乏症だと推定されており、亜鉛欠乏症は世界的に深刻な問題となっている^[8]。玄米中の亜鉛含有量は適量の窒素施肥により増加すると報告されている^[9]。本研究結果から、KH32C 株は玄米(日本晴)の亜鉛含有量を増強させる微生物資材として利用できる可能性が示された。これまでに、遺伝子組換え技術の利用により白米の亜鉛含有量が増加したという報告もある^[10]が、日本において遺伝子組換え作物の栽培は課題となっている。

土壌微生物群集は植物の生育段階や品種^[11]、施肥^[12,13]などにより影響を受けることが報告されている。土壌細菌群集プロファイルに基づく多変量解析から、KH32C 株のイネ種子への接種は、イネ根域土壌細菌群集構造に影響を与えることが示され(図 2, 3)、KH32C 株の接種が直接的もしくは間接的に根域土壌細菌群集に影響を及ぼすことが示唆された。一方、根域および根圏の微生物群が植物に影響を与えることもよく知られている。根域および根圏には、植物の生育を促進させる植物生育促進根圏細菌群(PGPR)が存在するが、植物自身が PGPR を制御しているとの報告もある^[14]。KH32C 株の接種により PGPB の相対存在量が増加したと推定されたことから、KH32C 株の接種は根域土壌細菌群集にも影響を及ぼすことが示唆された。

5. 結論

本研究において、イネ種子への KH32C 株の接種がイネの初期生育およびイネ根域土壌細菌群集構造に影響を及ぼすことが示された。イネの初期生育促進はイネの品種により効果が異なり、特に日本晴では低窒素・低炭素の貧栄養な土壌において初期生育促進効果が示されたことから、KH32C 株は窒素肥料低投入の圃場において微生物資材としての利用が期待される。

引用文献

- [1] Hayatsu M., Tago K., Saito M.: Various player in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification, *Soil Sci. Plant Nutr.*, Vol. 54, pp. 33-45, 2008.
- [2] Tago K. *et al.*: Phylogenetic and functional diversity of denitrifying bacteria isolated from various rice paddy and rice-soybean rotation fields, *Microbes Environ.*, Vol. 26, No.1, pp. 30-35, 2011.
- [3] Nishizawa T. *et al.*: Complete genome sequence of the denitrifying and N₂O-reducing bacterium *Azoarcus* sp. strain KH32C, *J. Bacteriol.*, Vol. 194, pp. 1255, 2011.
- [4] Chao Y. *et al.*: Structure, variation and co-occurrence of soil microbial communities in abandoned sites of rare earth elements mine, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 50, pp. 11481-11490, 2016.
- [5] Fageria N. K., Baligar V. C.: Methodology for evaluation of lowland rice genotypes for nitrogen use efficiency, *J. Plant Nutr.*, Vol. 26, No. 6, pp. 1315-1333, 2003.
- [6] 斎藤ら: 水稻の窒素利用効率における品種間差異, 日作紀, 第 75 巻, 別 2 号, pp. 4-5, 2006.
- [7] Myers S.S., *et al.*: Increasing CO₂ threatens human nutrition, *Nature*, Vol. 510, pp. 139-142, 2014.
- [8] Caulfield L.E. and Black R.E.: Comparative quantification of health risks: Global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors. Vol. 1, Ch. 5, World Health Organization, 2014.
- [9] Hao H. *et al.*: Effect of different nitrogen fertilizer levels on Fe, Mn, Cu and Zn concentration in shoot and grain quality in rice (*Oryza sativa*), *Rice Science*, Vol. 14, No. 4, pp. 289-294, 2007.
- [10] Masuda H. *et al.*: Overexpression of the barley nicotianamine synthase gene *HvNAS1* increase iron and zinc concentration in rice grains, *Rice*, Vol. 2, pp. 155-166, 2009.
- [11] van Overbeek L., van Elsas J. D.: Effects of plant genotype and growth stage on the structure of bacterial communities associated with potato (*Solanum tuberosum* L.), *FEMS Microbial. Ecol.*, Vol. 64, pp. 283-296, 2008.
- [12] Kamata M., Kawamura S., Sugino M.: Annual changes in soil nitrogen and microflora in paddy fields not fertilized long-term and fertilized paddy fields, *Mem. Fac. Agr. Kinki Univ.*, Vol. 24, pp. 1-13, 1991.
- [13] Konishi N. *et al.*: Nitrate supply-dependent shifts in communities of root-associated bacteria in *Arabidopsis*, *Microbes Environ.*, Vol. 32, No. 4, pp. 314-323, 2017.
- [14] Compant S., Clément C., Sessitsch A.: Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization, *Soil. Biol. Biochem.*, Vol. 42, pp. 669-678, 2010.

The Analysis Between the Sedimentation Characteristics of Shallow Lake and Human Activities in the Middle Reaches of Yangtze River

Mingli Zhang^{1,2}, Yu Qiu¹, Tian Sun¹, Yanhua Wang^{1,2}

¹ School of Geoscience of Nanjing Normal University, ² Jiangsu Center for Collaborative Innovation in Geographical Information Resource Development and Application

Keywords: ²¹⁰Pb dating, sedimentation rate, human activity, Honghu Lake

ABSTRACT

Lake sediments could record the sedimentary environment and invert environmental changes, especially in shallow lake. Environmental ²¹⁰Pb dating techniques were applied to determine recent sedimentation rates in a shallow lake named Honghu in the middle reaches area of Yangtze River, China. The results showed the recent sedimentation rate was 0.407~0.467g/(cm².a) by the ²¹⁰Pb intensity and CRS model. Base on the ²¹⁰Pb intensity and CRS model, time-depth correlation was established. It showed that four periods with sedimentation rate during more than one hundred years. (1) A lower average sedimentation rate was about Natural deposits before 1900 year. And (2) The rate was slowly increasing from 1900 to the 1949 with the increasing population slightly. (3) During the times from 1949 to the 1980, the sedimentation rate was about increasing rapidly with the people's cofferdam activities. Because the improved medical technology leads to an increase in local population after new China established whose need more foods. The higher average sedimentation rate indicated that the impact of human activities increased significantly. (4) After the 1980, the variations of sedimentation rate change gently, which were in connection with natural changes, as well as the intensity of human activities on the catchment whose awareness of environmental protection have increased.

1. INTRODUCTION

Lake sediment could record the environmental change and learn the impact from human activities^[1]. The paper evaluated the sediment rate using the radionuclide tracing technology and analyzed the relationship between the sediment characteristics and natural environmental changes and human activities.

2. METHOD

The sediment cores were collected from Honghu Lake in 2012 July, which is a Shallow Lake in the middle reaches of Yangtze River. Apply (1) High purity germanium gamma spectrometer to detect the radionuclide ²¹⁰Pb intensity^[2]; (2) ²¹⁰Pb dating techniques to calculate the sediment rates through the CRS model.

3. RESULTS

The results of the research (experiment) will follow the method.

3.1 The distribution of ²¹⁰Pb activity with the depth change

The ²¹⁰Pb activity was rising with fluctuation from the bottom to up.

3.2 The changes of grain size in every sediment layer

The sediment composition of the lake is mainly fine silt occupied from 35.5% to 49.5% in two cores.

3.3 the sediment rate

The sedimentation rate of the sediment was 0.407~0.467g/(cm².a) by the ²¹⁰Pb intensity and CRS model, and others get the similar studying result in the middle and lower reaches in Yangtze River^[3].

4. DISCUSSION

The lake sediment are affected by natural factors and

human activities in studying area. There are four stages according to the sediments characteristic.

(1) A lower average sedimentation rate was about Natural deposits before 1900 year.

(2) The rate was slowly increasing from 1900 to the 1949 with the increasing population slightly.

(3) During the times from 1949 to the 1980, the sedimentation rate was about increasing rapidly with the people's cofferdam activities.

(4) After the 1980, the variations of sedimentation rate change gently.

5. CONCLUSION

With the development of society, intensity of human activities play a more important role in lake sediment deposit and lake environmental changes.

REFERENCES

- [1] Yao Shuxiang, Bin Xue, Shijie Li, Jifeng Liu, Weilan Xia. Sedimentation Rates in Honghu, Chaohu and Taihu Lakes in the Middle and Lower Reaches of the Yangtze River. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 15(5): 569-573, 2006.
- [2] Ivanovich, M., Harmon, R.S., Uranium-series disequilibrium: applications to environmental problems. New York, Oxford University Press, 173, 1982.
- [3] Shi Xiaoli, Boqiang Qin. Study on ^{137}Cs and ^{210}Pb Dating and sedimentation rates of Wanghu Lake, Hubei Province. *Journal of Ningbo University (Natural Science & Engineering edition)*, 21(3):418-422, 2008.

水稻栽培技術の環境影響評価(LCA):無代かき栽培と疎植栽培

志村 もと子¹, 高橋英博¹, 伊藤千春², 渋谷允^{2*}, 林清忠³, 松森堅治¹

¹農研機構西日本農業研究センター, ²秋田県農業試験場, ³農研機構中央農業研究センター,

*(現在)秋田県由利地域振興局

キーワード: 広域的大気環境の影響, 水田, 温室効果ガス, 富栄養化, ライフサイクルアセスメント

抄録

近年, 水稻作では水質保全や生態系保全などの多面的機能に配慮した技術が導入されてきている。本研究では, 秋田県八郎潟干拓地において, 慣行技術・無代かき栽培・疎植栽培技術について, LCA手法を用いた環境影響評価を行い, 地球温暖化・富栄養化の環境インパクトを評価した。無代かき栽培は田植前の代かきを省く代わりに細かく砕土する技術であり, 田植前の入水タイミングが遅いため, 湛水時のメタン発生量が減少する。疎植は栽植密度を減らす技術で, 苗作りに関するエネルギー等が軽減される。無代かき技術の導入により, 温室効果ガス排出量は慣行栽培の69%に減少し, 富栄養化インパクトも環境改善を示す負の値に減少した。疎植栽培の温室効果ガス排出量は慣行栽培の93%に減少した。環境への影響を減らすためには, これらの栽培方法を適切に導入していく必要がある。

1. はじめに

近年, 水田では省力化, 低コスト化といった経営面に加え, 水質保全や生態系保全といった多面的機能に配慮した技術の導入が勧められてきた。

水田は湛水下で土壌が還元状態となり, 温室効果ガス(GHG)であるメタンガスが発生する。だが, 新しい技術を導入した際の地球温暖化や富栄養化へ与える影響を, ライフサイクル過程を追って検討した事例は非常に少なく, 十分な評価がなされていない。

本研究では, 水田への普及が勧められている技術の導入が環境に与える総合的な影響を明らかにし, 慣行技術と新技術とを比較するため, LCA(ライフサイクルアセスメント)手法を用いた環境影響評価を行った。

2. 方法

2.1 調査地と栽培技術

2011~2013年に, 秋田農試大潟農場(秋田県大潟村)の水田で水稻(あきたこまち)の栽培試験を行った。移植から7月上旬の中干しまで継続的に湛水し, その後は間断灌漑とした。肥料は鶏ふんペレットと被覆尿素を施用した(計6kgN/10a)。メタンガスは田植から落水までの約3か月間, クローズドチャンバー法で測定した。

評価対象とした技術は, 無代かき栽培と疎植栽培である。無代かき栽培は, 代かきをせず, ロータリーで耕起した後にドライブハローで2~3回砕土する。代かき時の濁水排出がないため水質保全効果が高いほか, 水稻の根活性が高まり, 高温登熟下での品質低下が生じにくい。また, 移植前の灌水を移植直前まで遅らせると, 土壌の還元化がやや抑制されるため, メタン発生量の

減少が期待される^[1]。疎植は, 栽植密度を慣行より減らす栽培技術の総称で, 今回は21株/m²から15株/m²へ3割減らして行った。苗箱数が慣行より少ないため, 育苗や苗運搬の労力, 土や農薬, 苗箱などの資材費が軽減される省力低コスト技術である。慣行より登熟速度がやや遅くなるため, 高温障害を受けにくいという点からも普及が勧められている。

なお, どちらの技術も導入による収量の増減はみられず, 品質も慣行に劣らなかった。

2.2 使用ソフト

解析には, LCAソフトウェアSimaPro ver.8.4.0を使った。評価手法には, 地球温暖化にはIPCC GWP 100aを, 富栄養化にはLIMEを用いた。解析に用いたインベントリデータの主なものを表1に示す。

表1 インベントリデータ

収量	10aあたり収量
燃料	消費量
農業機械	価格, 実耐用年数, 負担率
ハウス	面積, 実耐用年数, 負担率
肥料	商品名, 単価, 使用量, 成分含有率
農薬	商品名, 単価, 使用量, 種類
種苗	単価, 使用量
資材	商品名, 単価, 使用量, 種類
ガス	メタン
溶脱	窒素負荷量

斜字: 秋田県水稻経営指標データ

その他: 現地での実測および聞き取り調査結果等

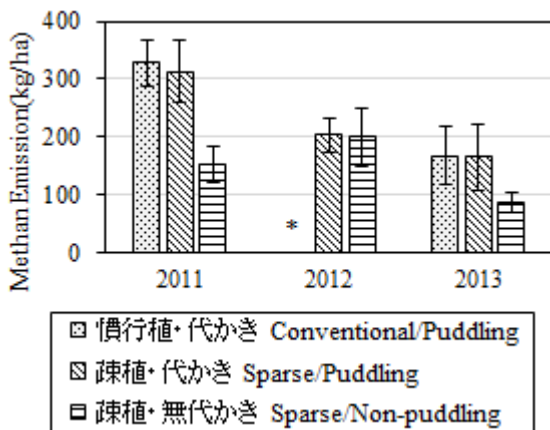
影響評価は、田面からの排出・燃料消費・機械製造・肥料製造(化学肥料・有機肥料)・農薬製造・資材等製造の7過程に区分して行った。

3. 結果

3.1 メタンガス発生量

田面からの発生量は年によって差が見られた。2011年と2013年は、無代かき区の発生量が代かき区の約半分と少なかったが、2012年は差が小さかった(図1)。3年間の総量でみると、無代かき区の発生量は代かき区の64%であり、メタン発生が抑制されていた。

慣行植区と疎植区では発生量の差は小さく、疎植区は慣行植区の93%であった。



* : 欠測 missing

エラーバー error bars: 標準偏差 the standard deviation

耕起日 The plowing dates:

2011/5/18-26, 2012/4/19-20, 2013/5/9-10

図1 メタン発生量 Methane emissions⁽²⁾

3.2 温室効果ガス(GHG)排出量

代かき区・無代かき区での排出過程別温室効果ガス排出量を図2(a)に示す。排出量は、二酸化炭素、メタン、一酸化二窒素の排出量を、二酸化炭素に換算して示す。

過程別にみると、田面からの排出量の割合が最も高く、代かき区では排出量全体の86%、無代かき区では80%を占めた。田面からの排出の大部分が前節で説明したメタンであった。次に多いのが化学肥料製造過程からの排出で代かき区4.1%、無代かき区5.9%であった。

無代かき区のGHG排出量は代かき区の69%と少なくなり、無代かき栽培の導入による温室効果ガス排出量の抑制効果がみられた。疎植区の温室効果ガス排出量は慣行植区の93%であった。

3.3 富栄養化インパクト

代かき区、無代かき区の富栄養化インパクト(特性値EPMC)を過程ごとに求めた結果を図2(b)に示した。代かき区では田面からの排出過程の寄与が大きい、無

代かき区ではその過程の値がマイナス値となっており、負の影響、つまりこの場合は周囲の水環境を浄化していることを示している。他の過程はプラス値で富栄養化を促進しているが、その値は田面からの排出による影響と比べるとわずかである。

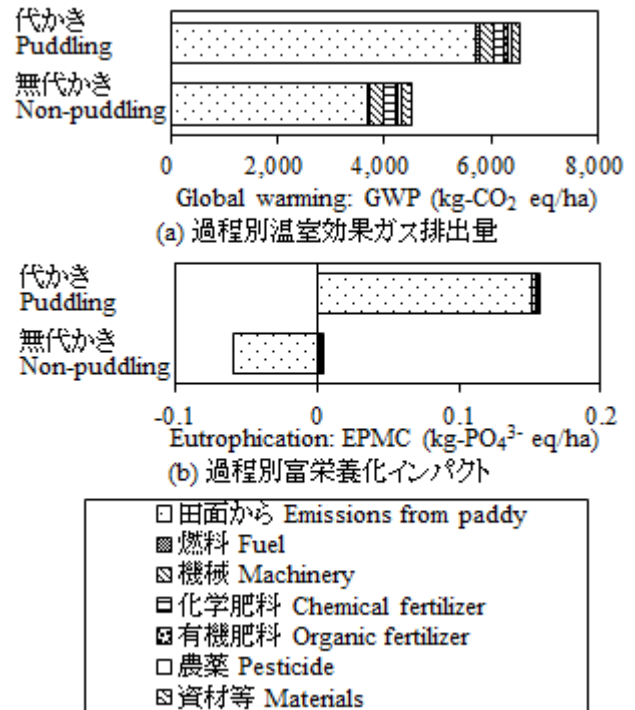


図2 代かき区・無代かき区の排出過程別の温室効果ガス排出量と富栄養化インパクト(疎植時)

4. 考察

水稻への新たな栽培技術導入による環境影響評価(地球温暖化と富栄養化)を行った。温室効果ガス排出量は、無代かき区は代かき区の69%、疎植区は慣行植区の93%にとどまり、地球温暖化抑制効果がみられた。富栄養化インパクトは、無代かき区では負の値を示し、水質環境の改善に貢献していることが示された。水稻作が環境へ与える影響を小さくするには、これらの栽培の導入を適切に行うことが必要である。

なお、本研究は農林水産省「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」において実施したものである。

引用文献

[1] 伊藤千春, 渋谷允, 林雅史, 渋谷岳: “東北農業研究成果情報”, 農研機構, (オンライン), 入手先<http://www.naro.affrc.go.jp/org/tarc/seika/jyouhou/H24/kankyoku/H24kankyo_u009.html>, (参照 2018-5-2)

[2] Motoko SHIMURA, Hidehiro TAKAHASHI, Chiharu ITO, Makoto SHIBUYA, Kiyotada HAYASHI, and Kenji MATSUMORI: Improvement Potential of Life Cycle Greenhouse Gas Emissions from Paddy Fields: Assessing Influence of Sparse Transplanting and Non-puddling, JARQ, Vol. 51 No. 2, pp. 155-164, 2017.

An *N*-alkane $\delta^{13}\text{C}$ for Assessing Sources of Terrestrial Organic Matter in Lacustrine Sediments in China

Yanhua Wang¹, Yuping Liu¹ and Xia Chen

¹ School of Geography Science, Nanjing Normal University, ² Jiangsu Center for Collaborative Innovation in Geographical Information Resource Development and Application

Keywords: lake sediment, organic matter, *n*-alkane and $\delta^{13}\text{C}$

ABSTRACT

To assess sources of terrestrial organic matter in lacustrine sediments in China, three sediment cores were collected from an area of several square meters in a small catchment. Results show 126 years of sediment deposition, from year 1885 to 2011. The accumulation rates ranged from 2.69 to 8.46 mm a⁻¹. All sediment samples were dominated by odd numbered *n*-alkanes (*n*-C₁₆~*n*-C₃₃), especially *n*-C₁₇, *n*-C₂₉ and *n*-C₃₁ as the most abundant homologues. Aliphatic hydrocarbon fractions are mainly composed of terrestrial higher plant-derived long-chain *n*-C₂₉ and *n*-C₃₁ alkanes. The most abundant compounds have been described as typical constituents of trees and shrubs (C₃ plants). The indicators indicate enhanced eutrophication resulted from increased anthropogenic activities in the Taihu watershed.

1. INTRODUCTION

The sedimentary organic matter (OM) is a heterogeneous and a complex mixture of organic compounds with different chemical characteristics, originating from autochthonous primary production and allochthonous terrestrial materials (Wang et al., 2015 and references therein). However, autochthonous and allochthonous contributions in the complex environments of the watershed with excursions to larger carbon stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$) values make it difficult to determine accurately the OM sources by *n*-alkanes distribution. The principal aims of this study were: to identify sedimentary OM sources and assess quantitatively the C₃ plants contribution to sedimentary OM.

2. METHOD

In present study, three sediment cores were collected from an area of several square meters in a small catchment. The core was sectioned at 1 cm intervals. The sub-samples were crushed to a fine powder (particle size ≤ 0.15 mm). The activities of ²²⁶Ra and ²¹⁰Pb were determined using a high-resolution HPGe γ -spectrometry system with 62% relative detection efficiency (GWL-120-15, USA). A constant CRS model was applied to date the sediment core. The alkane compositions were analyzed by gas chromatograph (GC, HP 6890 II, Agilent, USA) with a split/splitless injector and a flame ionization detector (FID).

3. RESULTS

The ²¹⁰Pb_{ex} activities in the sub-samples ranged from 16

to 102 Bq kg⁻¹. A constant CRS model gave 126 years of sediment deposition, from year 1885 to 2011. The accumulation rates ranged from 2.69 to 8.46 mm a⁻¹.

All sediment samples were dominated by odd numbered *n*-alkanes (*n*-C₁₆~*n*-C₃₃), especially *n*-C₁₇, *n*-C₂₉ and *n*-C₃₁ as the most abundant homologues. In this study, aliphatic hydrocarbon fractions are mainly composed of terrestrial higher plant-derived long-chain *n*-C₂₉ and *n*-C₃₁ alkanes. The values of bulk $\delta^{13}\text{C}$ for organic matter ($\delta^{13}\text{C}_{\text{SOC}}$) (by IRMS, USA) varied from -24‰ to -21‰. The values of carbon isotopic compositions of long-chain *n*-alkanes ($\delta^{13}\text{C}_{27}$, $\delta^{13}\text{C}_{29}$ and $\delta^{13}\text{C}_{31}$) exhibited a range of -33‰ to -25‰, -35‰ to -28‰ and -31‰ to -26‰, respectively.

4. DISCUSSION

The *n*-alkanes distribution observed in this study agrees with earlier observations in the Shuanglong catchment of the Dianchi watershed (Wang et al., 2015). The terrestrial higher plants may be the main sedimentary OM origin. The most abundant compounds have been described as typical constituents of trees and shrubs (C₃ plants).

5. CONCLUSION

- 1) The contribution of terrestrial C₃ plants ranged from 41% to 95%.
- 2) The sedimentary OM was mainly derived from terrestrial higher plants with C₃ metabolism.
- 3) Increased human activities enhanced the OM inputs and deposition in the watershed, resulting in much worse ecosystem in the past decades.

REFERENCES

- [1] B. Aichner, U. Herzsuh, H. Wilkes, A. Vieth, J. Böhner: δD values of *n*-alkanes in Tibetan lake sediments and aquatic macrophytes - a surface sediment study and application to a 16 ka record from Lake Koucha, *Organic Geochemistry*, Vol. 41, pp.779-790, 2010.
- [2] Y. Wang, H. Yang, J. Zhang, W. Gao, C. Huang, B. Xie: Characterization of *n*-alkanes and their carbon isotopic composition in sediments from a small catchment of the Dianchi watershed, *Chemosphere*, Vol. 119, pp.1346-1352, 2015.

題名：基盤整備後ハス田地帯からの流出量調査について

飯尾 恒¹, 吉田 繁樹^{1,2}, 吉尾 卓宏³, 北村 立実¹, 松本 俊一¹, 黒田 久雄⁴

¹茨城県霞ヶ浦環境科学センター, ^{2(現)}茨城県農林水産部畜産課, ³茨城県農業研究所, ⁴茨城大学農学部

キーワード: ハス田, 農業, 流出負荷量, 基盤整備

抄録

全国第2位の湖面積を有する霞ヶ浦の流域はレンコン栽培が非常に盛んな地域である。茨城県のレンコン出荷量は全国1位であり、全国のレンコン収穫量・出荷量の半分近くを占めている。茨城県土浦市手野地区はレンコン専作地帯で、1995年から2015年にかけて日本で初めてハス田での基盤整備を実施し、コンクリート畦畔整備や用排分離等を行った。本研究では基盤整備された手野地区において流出負荷量調査を行い、基盤整備による流出負荷量の影響を調査した。その結果、過去の手野地区における研究に比べ、差引排出負荷量が大きい値を示した。これらは用排分離を行った結果、田越灌漑の沈殿効果の消失した影響であることが考えられた。しかし、土浦市内の他の地区における差引排出負荷量と比較した場合、本研究の値はそれらと大きな差はないことから、一般的なハス田群からの流出する負荷量と同程度であることが示唆された。

1. はじめに

霞ヶ浦は茨城県、栃木県及び千葉県の一部を流域とする日本第2位の湖沼面積を有する湖沼である。しかし、湖沼面積が広く、水深が浅いなどの特徴や湖水の交換日数に約200日かかることから、元来水質汚濁が生じやすい湖沼でもある

茨城県のレンコン作付面積は1,610haであり、その収穫量・出荷量は全国の半分近くを占めている^[1]。レンコンの収穫方法は水掘りと手掘りがあり、茨城県では水掘りにて収穫している。この水掘りは地下水をくみ上げ、ポンプの水圧で泥を飛ばしレンコンを収穫するため、作業効率は良いが濁水が生じやすい^[2]。

手野地区は、茨城県土浦市東部の霞ヶ浦湖岸に位置するレンコン専作地帯である。手野地区のハス田は、もともと区画が小型不整形で道路は狭く屈曲し、用排水施設も未整備であった。このため、1995年から2015年にかけて日本で初めてハス田での基盤整備を実施し、コンクリート畦畔整備や用排分離等を行った。これまでに、手野地区では基盤整備完了前に流出負荷量調査が行われていたが、基盤整備完了後に調査は行われていない^[3,4]。

そこで、本研究では基盤整備された手野地区において流出負荷量調査を行い、基盤整備による流出負荷量の影響を調査したので報告する。

2. 方法

2.1. 調査地の概要

調査地は茨城県土浦市手野地区のハス田群148haを対象にした(図1)。地区内に数戸の住宅が見られるが、土地利用のほとんどはハス田である。

手野地区の排水は石田揚排水樋門へ集まり、霞ヶ浦に自然排水している。ただし、大雨等の場合のみ石田排水機場からポンプを用いて強制排水を行っている。用水は石田揚排水樋門へ流れてくる排水を手野第一用水機場にて地区東側に揚水しており、地区西側を流れる境川の水を手野第二用水機場にて地区西側に揚水している。手野第一用水機場については石田揚排水樋門から自然排水しているため、用水ポンプを稼働すると霞ヶ浦から一部流入が認められる。また、一部ハス田は境川上流から分岐する用水路から取水している(図1)。

2.2. 調査方法

手野地区において、2016年9月から1年間調査を実施した。採水は末端の用排水機場では自動採水器を用いて24時間間隔、用水機場と用水路では毎週手動採水を行った。排水量は堤脚水路に設置した

自記水位計と電磁流速計の結果から算出した。取水量はポンプ稼働時間と流入水量から算出した。ハス田の調査はハス田に設置した自動採水器を用いて朝夕採水した。排水量は直角三角せきを用いて算出した。水質分析はJIS法（K 0102）に準拠して行った。

3. 結果と考察

手野地区はもともと田越灌漑でレンコン栽培を行っていたが、基盤整備に伴い畦畔のコンクリート化と用排分離を行った。

本研究で手野地区における流入水と排水を調査した結果、過去の手野地区における研究に比べ、差引排出負荷量が大きい値を示した^[3,4]。ハス田で田越灌漑を行うと、下流のハス田を通過する最中に負荷量が削減することが知られている^[5]。このことから、基盤整備により田越灌漑の負荷削減作用が消失した結果、過去の研究に比べ差引排出負荷量が大きくなったことが示唆された。しかし、土浦市内の他の地区における差引排出負荷量と比較した場合、本研究の値はそれらと大きな差はないことから、一般的なハス田群からの流出する負荷量と同程度であることが示唆された^[4]。

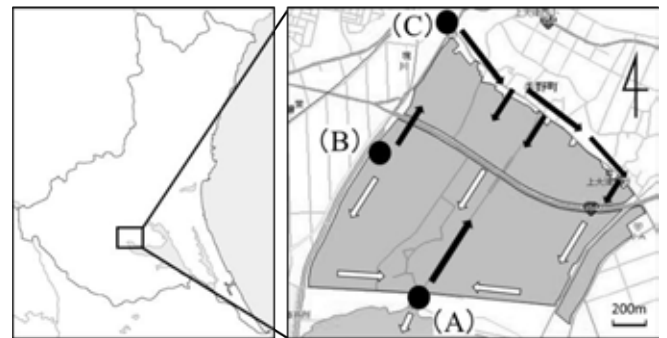


図1 調査地点地図

手野地区は地区南側の(A)石田揚排水樋門から霞ヶ浦に排水している。また、地区北側の境川から分岐する(C)用水路と、西側の(B)境川にある手野第二用水機場から取水している。(A)手野第一用水機場では排水を揚水している。

➡ : 用水方向, ⇨ : 排水方向

引用文献

- [1] 農林水産省: 平成 28 年産野菜生産出荷統計, 2017.
- [2] 沢田 英司: 新得産シリーズレンコン栽培から加工・販売まで, 社団法人農山漁村文化協会, 2010.
- [3] 黒田 久雄, 加藤 亮, 中曾根 英雄: ハス田群からの流出負荷量調査について, 農業農村工学会論文集, No. 265, pp. 47-53, 2010.
- [4] 北村 立実, 吉尾 卓宏, 山本 麻美子, 塚本 威, 黒田 久雄: 河川から灌漑する霞ヶ浦湖岸ハス田地帯からの流出負荷特性, 農業農村工学会論文集, No. 286, pp. 11-17, 2013.
- [5] 吉尾 卓宏, 山本 麻美子, 元木 努, 北村 立実, 片倉 洋一: ハス田から流出する汚濁負荷削減のための調査研究 (H18 ~ H21), 茨城県霞ヶ浦環境科学センター年報, 第 6 号, pp. 57-64, 2010.

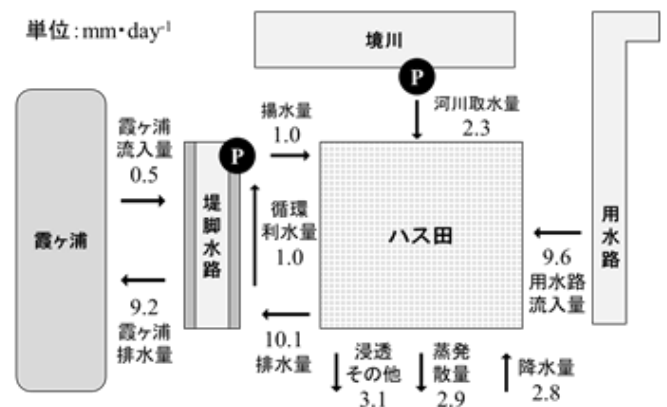


図2 手野地区日平均水収支フローダイヤグラム

P5-6

Recent changes in the vertical distribution of Nitrogen and Phosphorous in a brackish lake Ogawarako of northeastern Japan.

Kazunori Shizuka^{1,2}, Nagamitsu Maie³, Sakurako Nagayama³, Rikuo Yamabata³, Masayasu Nagasaki¹, Noriaki Matsuya¹, Wataru Kakino³, Hajime Tanji³.

¹Inland Water Fisheries Research Institute, Aomori Prefectural Industrial Technology Research Center, ²Graduate School of Veterinary Sciences, Kitasato University, ³School of Veterinary Medicine, Kitasato University

Keywords: Brackish lake, Nutrient Dynamics, Eutrophication, Long-term monitoring, Nitrogen, Phosphorous

ABSTRACT

Lake Ogawarako is a brackish lake located in a rural area of the east part of Aomori Prefecture, the northernmost part of the main island of Japan. There, eutrophication, which leads to the dominance of cyanobacteria, has become a big problem as is the case with other brackish lakes. To cope with this problem, we surveyed recent changes in the total amounts of total nitrogen (TN) and total phosphorous (TP) in the whole lake water (hereafter refer to Σ TN and Σ TP, respectively) and its vertical distribution from Oct. 2010 to Aug. 2017. Σ TN and Σ TP were 1092 ± 179 t and 109 ± 29 t, respectively. About 22-63% of Σ TN and 38-79% of Σ TP were distributed in the high-salinity layer of 15-21m, which composed only 13% of the lake water volume. TN and TP amounts in this layer largely varied temporally, suggesting that they were contributing significantly to the TN and TP amounts in the low-salinity layer. Σ TN decreased from 2015, and at the same time, halocline also deepened from ca. 15 m to 17 m. Therefore, it is considered that TN in the high-salinity layer were advected and diffused into the low-salinity layer, and outflowed from the lake. Σ TP tended to increase during the survey period. However, after typhoon events in Aug-Sep 2016, it dropped sharply, probably due to the flush out of massive amounts of water from the watershed and possibly due to adsorption of phosphate onto Andisol transported from the watershed.

1. INTRODUCTION

Lake Ogawarako is a brackish lake with the fifth largest surface area in Japan, where catches are among the highest for inland fishery in Japan. Recently, it has become increasingly eutrophic, and water quality degraded as is seen by the blooming of cyanobacteria and production of unusual odor. To cope with these problems, it is necessary to unveil the dynamics of nitrogen and phosphorous in the lake water. Therefore, we investigated the vertical distribution of total nitrogen (TN) and total phosphorous (TP) in the lake water from Oct. 2010 to Aug. 2017, and discussed the influential factors including typhoon.

2. STUDY AREA

Lake Ogawarako is a brackish lake located in the northeastern part of the main island of Japan. The area is a temperate rainy climate (Cfa), with annual average temperature of 12.4°C (max 25.1°C; min -0.5°C) and annual precipitation of 861 mm. It is a rural area and the main land-use of the watershed is forest and arable land. Surface area and max and average depths of the lake are 62 km², 26m (deepest among brackish lakes in Japan), and 11 m, respectively. Residence time of the lake water is about 1 year.

Most of river water flows into the lake from the southwest and flow out to the north. Sea water sometimes runs back from Pacific Ocean, especially in summer and winter. In recent years, high-salinity water with no oxygen is stagnated, forming halocline at around 16-18m.



Fig. 1 Map of Lake Ogawarako^[2]

3. METHODS

Vertical water samples were collected using a Van Dorn water sampler every 2 m at the center of the lake every month from Apr. 2015 to Aug. 2017. Analysis of total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) was conducted by continuous flow analysis with an auto-analyzer (SWAAT, BL-TEC). TN and TP data from Oct. 2010 to Mar. 2015 was cited from long term monitoring data collected by Ministry of Land, Infrastructure, Transport, and Tourism, and is publicly available in Water Information System (<http://www1.river.go.jp/>). The volume of the lake water was calculated based on a digital bathymetric map of Geospatial Information Authority of Japan (<http://www.gsi.go.jp/kankyochiri/lakedatalist.html>) by using SAGA GIS (ver. 2.3.2). TN and TP amounts were calculated by multiplying TN or TP concentrations and water volume of each depth section.

4. RESULTS

4.1. Total nitrogen

Total amount of TN in the whole lake water body (Σ TN) ranged from 642 t to 1554 t, with an average of 1092 t from Oct. 2010 to Aug. 2017. It increased during Jan. to Apr., showing by 9% higher values than other months (Fig. 2). Σ TN increased from 800-1100 t in 2011 to 1100-1500 t in 2014, then turned to decrease and was 800-1000 t in 2017. When looking at vertical distribution, 43% on ave (min 22%, max 63%; Fig.3) of Σ TN was distributed in 15-21 m depth section. When looking at intra-annual variation, the TN amount remarkably increased in the <10m section from Jan. to Apr. For interannual variation, TN amount tended to decrease at < 10 m from 2015, and the TN amount in 15-21 m section decreased sharply from Aug. 2016, after unusual disturbance by typhoons.

4.2. Total phosphorous

Total amount of TP in whole lake water body (Σ TP) ranged from 61 t to 192 t with an average of 109 t from Oct 2010 to Aug. 2017 (Fig. 2). While no appreciable seasonal trend was observed, it increased from 60-130 t in 2011 to 100-190 t in 2014, and kept the value until Aug. 2016. The Σ TP showed a sharp decrease to 70-120 t from Sep. 2016, after extensive disturbance caused by a series of typhoons.

A large amount of TP was distributed between 15-21 m section, which composed of ave 66% (min 38%, max 79%) of Σ TP (Fig.3). The amount remarkably increased from Jan. to Apr. as was the case with TN. TP in 15-21m section sharply decreased while TP <10 m increased in Feb.

and Aug. 2016.

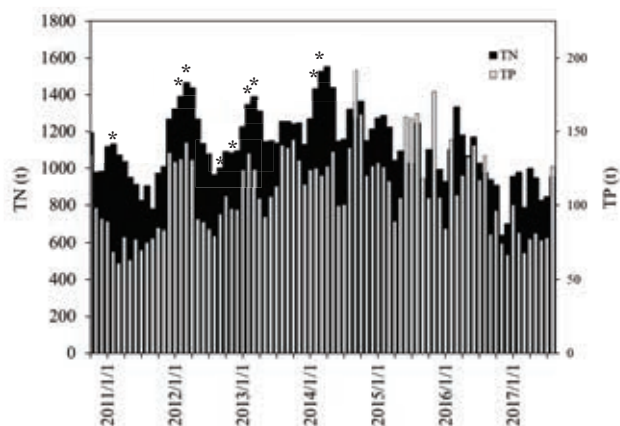


Fig. 2 Total amount of TN and TP in the whole water body of Lake Ogawarako from Oct. 2010 to Aug. 2017. Bars with * were obtained mathematically by spline interpolation.

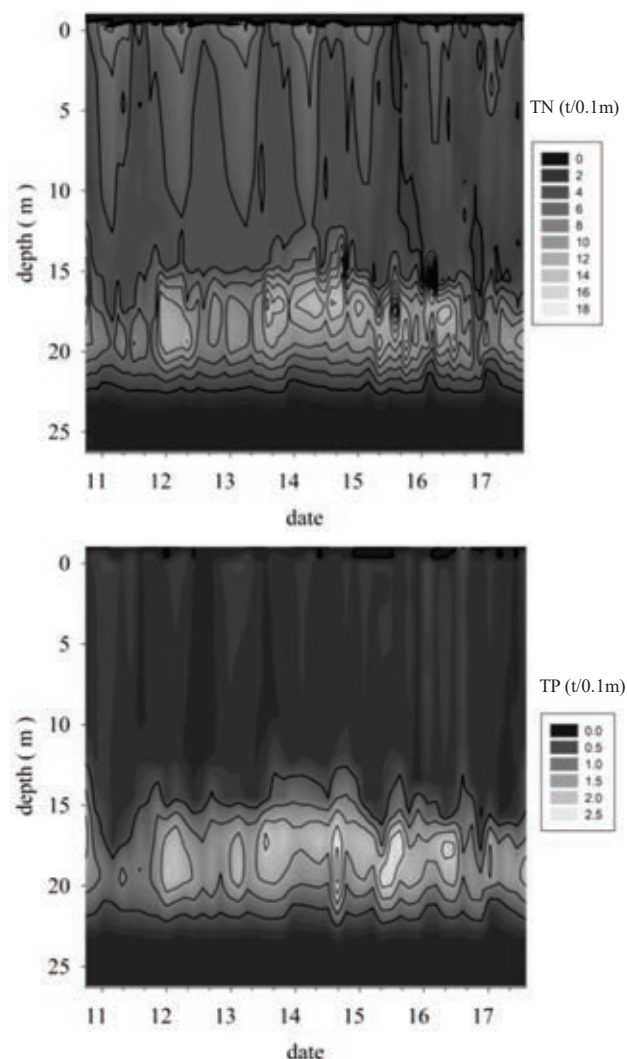


Fig. 3 Vertical distribution of the amount of TN and TP in Lake Ogawarako from Oct. 2010 to Aug. 2017.

5. DISCUSSION

Lake Ogawarako has halocline at around 15-18 m all through the year. Since the mixing of lake water beyond halocline is restricted, and in addition, TP and TN are loaded from the bottom sediment under anoxic condition, TN and TP concentrations in high-salinity water were ave 10 and 37 times higher than surface water, respectively. Reflecting these, 22%-63% of Σ TN and 38%-79% of Σ TP were distributed in 15-21 m section, where only 13% of total water volume existed. Interestingly, the total amount of TN and TP in 15-21 m zones changed significantly over time. Therefore, TN and TP in this section is considered to be the important source of those in the upper section.

We found that TN and TP concentrations below halocline zone changed dramatically when sea water inflowed from Pacific Ocean. Since the density of back-flow sea water was much heavier than that of lake high-salinity water, it went under the lake water, lifting it up. This probably caused advection diffusion of high salinity water and followed diffusion into the low-salinity layer with vertical mixing. This phenomenon was usually observed from Oct. to Apr. unless the surface got frozen.

The Σ TN tended to be larger by 9% from Jan.-Apr. than other months. This is probably because the relative contribution of internal loading became larger during this period with the decrease in the river water inflow, leading to the prolonged retention time of the lake water. Σ TN (1092 t) and Σ TP (192 t) corresponded to 1.0 and 4.5 times of their annual loading from the watershed^[1] (TN: 1059 t, TP: 24 t), respectively. This suggested that the amount of N in the lake was more prone to be influenced by inflowing water.

Σ TN turned to decrease after 2015, which change was in accordance with when the depth of halocline layer dropped from ca. 15m to 17m. As such, changes in the volume of high-salinity layer, which accumulates a large amount of TN, probably causes changes in Σ TN in the lake. Σ TP turned to decrease after Sep 2016, and one month before that, TP amount from low-salinity water section increased sharply. As such, the changes can be attributed to three typhoons landed/passed by in series. Especially, typhoon No. 10 (aka. Lionrock) landed Tohoku district on Aug. 30, 2016 for the first time after 1951 mixed the lake water severely, made P in the high-salinity layer move up to low-salinity layer. Followed with that, a portion of TP in low-salinity layer was flushed out from the lake with massive amount of inflowing water from watershed. It is notable that the decrease was only observed for TP. This could be due to the difference in the degree of

contribution of internal loading and could also due to the adsorption of phosphate onto Andisol, which was transported from the watershed into the lake as suspended solid.

6. CONCLUSION

We investigated the actual status of N and P in the water body of Lake Ogawara, a brackish lake in temperate region, and their recent changes. Further, we discussed the possible influential factors. Total amounts of N and P in the whole water body of the lake is estimated to be 1092±179 t and 109±29 t, respectively. On average, 43% of TN and 66% of TP were distributed in 15-21 m section, where only 13% of total water volume existed. The amount of N and P in this section significantly changed intra-annually and inter-annually, and serving as the important nutrient source of the upper section. Total amount of N tended to decrease since 2015 in association with the deepening of halocline. Thus, changes in the vertical circulation is considered to influence largely on the water quality in the surface water. Total amount of P tended to increase since 2011, but it decreased sharply after typhoon events in Aug-Sep. 2016. This result suggested that P dynamics in the lake water is influenced strongly by extreme weather events. Concluding this research, water quality in Lake Ogawarako was shown to be strongly affected by hydrology characteristics of the lake. Further long-term monitoring and experimental verification are necessary to reveal the mechanisms of the changes in nutrient cycling caused by global warming, which changes lake/watershed hydrology and increases the number and extent of extreme weather events.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Hideki Ebina and other staff members of Lake Ogawara Fisheries Cooperative Association for their cooperation in the survey of Lake Ogawara. Part of the data used in this paper was cited from the water quality monitoring data conducted by Takase River Management Office, Tohoku Regional Development Bureau, Ministry of Land, Infrastructure, and Transport. This work was supported by JSPS KAKENHI Grant Number 15K07532.

REFERENCES

- [1] Nishida, S. and Suzuki, S. 2007. Variability of water quality and nutrients cycle in Lake Ogawara, Fisheries Engineering, 44, 39-43 (in Japanese).
- [2] Geospatial Information Authority of Japan. <http://www.gsi.go.jp/kankyochiri/lakedatalist.html>

Evaluation of Available Water Resources and Nitrogen Runoff in Northeast Thailand

Yuki Jikeya¹, Koshi Yoshida¹, Shigeya Maeda¹ and Hisao Kuroda¹

¹ Ibaraki University, Japan

Keywords: TOPMODEL, Water balance, Nitrogen dynamics, Spatial distribution

ABSTRACT

In Northeast Thailand, the ratio of irrigated agricultural land is only 8% and others are rain-fed so that climate change makes agricultural production more unstable and also makes crucial damage to the societies and economics in local area. To mitigate these issues, it is desirable to develop and disseminate enhanced adaptation systems. In this study, water and nitrogen-load estimation model was developed and applied to Northeast Thailand. Both calculated river discharge and nitrogen load were good agreement with observed data. By using the proposed model, spatial distribution of available water and annual nitrogen load were estimated, and histograms of nitrogen load from each land use was evaluated.

1. INTRODUCTION

Meteorological Uncertainty caused by Global Climate Change would have significant impact on agricultural sector, because agricultural systems are strongly related with local climate condition. Especially in Northeast Thailand(Fig.1), the ratio of irrigated agricultural land is only 8% and others are rain-fed so that climate change makes agricultural production more unstable and also makes crucial damage to the societies and economics in local area. To mitigate these issues, it is desirable to develop and disseminate enhanced adaptation systems. In this study, water and nitrogen-load estimation model was developed to assess the spatial distribution of available water resources and nitrogen runoff, and applied to Northeast Thailand.



Fig. 1 Study Area

2. METHOD

2.1 TOPMODEL

To evaluate nitrogen transportation according to the river water flow, a distributed water-cycling model was developed and applied to analyze the water balance in the basin [6]. TOPMODEL was employed for the rainfall-runoff analysis. This distributed model can include the spatial distributions of topography, land use, and soil characteristics. Therefore, TOPMODEL is used widely for hydrological characteristic analysis, water management, water quality analysis, and future forecasting. Firstly, TOPMODEL was proposed by Beven and Kirkby (1979) based on the contributing area concept in hillslope hydrology.

Because TOPMODEL requires only three parameters (i.e., m , T_o , and $Sr_{z_{max}}$), the model is easy to link with GIS data[1]. In addition, a dam operation model was combined with TOPMODEL to calculate water storage in the reservoirs [3].

2.2 Nitrogen balance model

For a nitrogen dynamics analysis in soil, Suga (2005) mentioned that three type of nitrogen such as organic, ammonium, nitrate should be considered. In this study, a conceptual nitrogen balance model was developed by considering three pools in soil, organic N, ammonium N, and nitrate N, as shown in Fig. 2. In this study, organic N here is assumed as nitrogen contained in relatively firstly decomposed organic matter which can be obtained by autoclave-extractable nitrogen test. The soil N, present mainly in organic form, is almost unavailable for plants. The vegetation uses mostly inorganic forms of N, which are made available by decomposition of organic matter. Soil microorganisms convert the N contained in the

organic matter through the process of mineralization. Nitrates dissolve quickly in pore solution, which is taken up by plants. On the other hand, this means that nitrate is easily leached to groundwater. Ammonium N is less mobile because it is strongly adsorbed on clay minerals because of its positive charge.

3. RESULTS AND DISCUSSION

By using the proposed model, water and nitrogen balances in Northeast Thailand were calculated at a resolution of 1 km × 1 km. The calculated river discharge was in good agreement with the amounts observed at Yasothon station from 1987 to 2003 (Fig. 3). The first 5 years of data were used for parameter calibration, and the latter 12 years of data were used for validation. At the Yasothon station, Nash-Sutcliffe efficiency (NSE) were 0.81 in the calibration and validation periods. Model performance can be evaluated as “good”, if $NSE > 0.75$ [4].

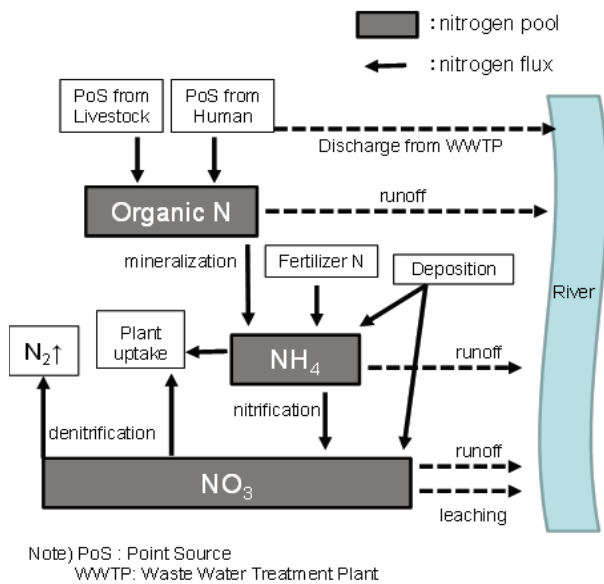


Fig. 2 Nitrogen Balance Model

The observed and calculated daily nitrogen load at the Yasothon station is shown in Fig. 4. Estimated correlation coefficients R were 0.69. The data of total nitrogen concentration in the Mun-Chi River Basin were measured only once per month; therefore, there is a possibility that peak nitrogen load might not be observed in such data. The current monitoring system of water quality data is manual, so if the frequency of monitoring were to be improved by using an automatic monitoring system, the model parameters also could be calibrated through better fitting.

To make clear the characteristics of nitrogen load from different land use, the histograms of nitrogen load from each land use were evaluated (shown in Fig. 5). In urban grid cell, nitrogen load ranged very widely compare to other land use, however average nitrogen load was 15.6 kg/ha/year, and it was larger than other land use. On the other hand, nitrogen load in forest was relatively small (0.84 kg/ha/year).

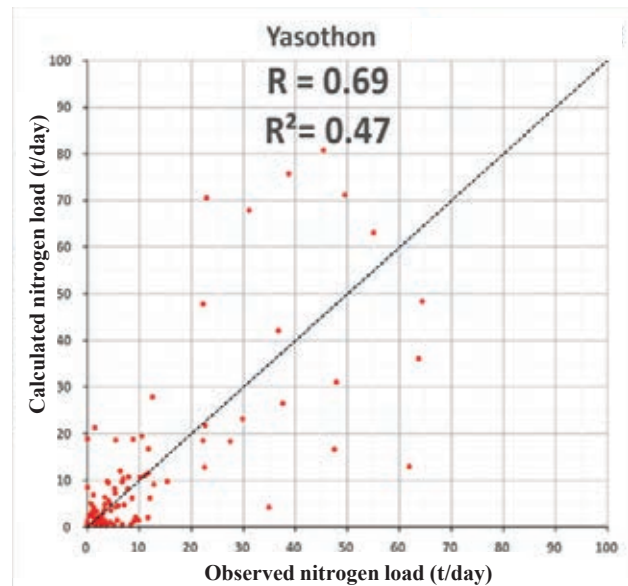


Fig. 4 Obs and Cal nitrogen load at Yasothon station

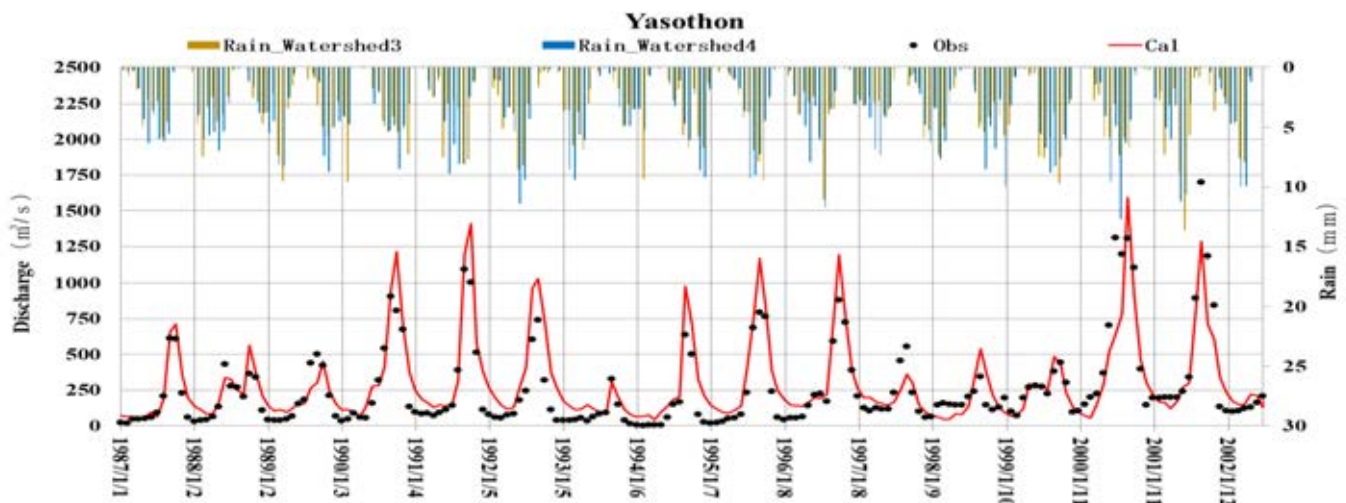


Fig. 3 Observed and calculated river discharge at Yasothon station

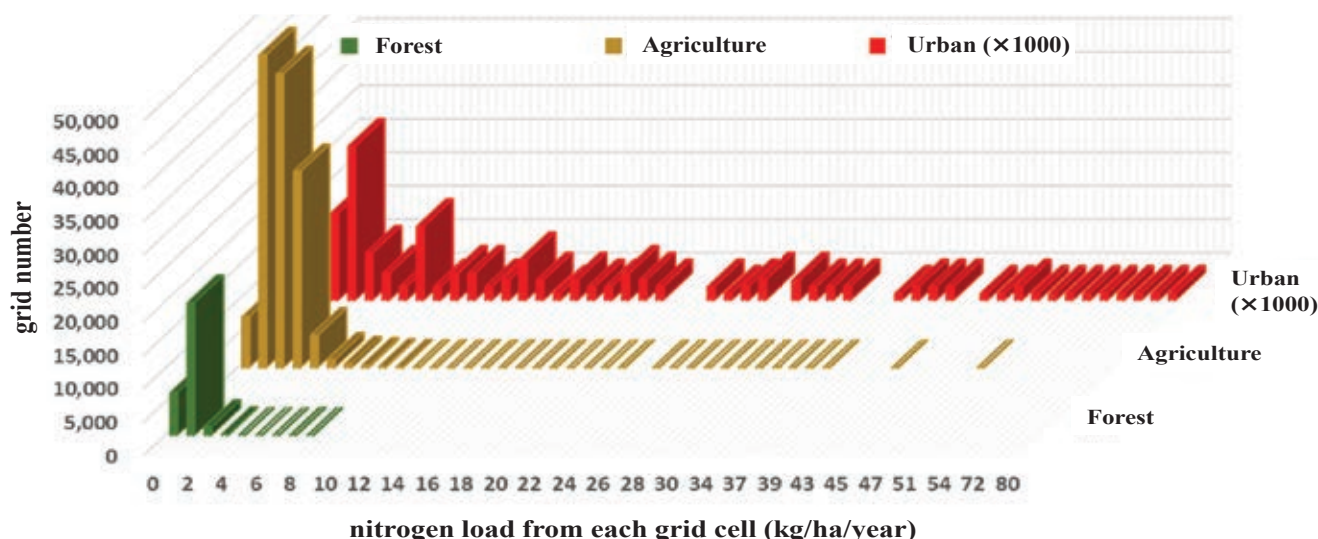


Fig. 5 Histograms of estimated nitrogen load from each grid cell

4. CONCLUSION

In this study, conceptual nitrogen balance model combined with TOPMODEL was developed and applied to Northeast Thailand as the quantitative evaluation tool of the spatial distribution of nitrogen loading from different land use. Nash-Sutcliffe efficiency of river discharge at observed station were more than 0.75 which model performance can be evaluated as “good”. The correlation coefficients of estimated average annual nitrogen-load at Yasothon station were 0.69. By using the proposed model, spatial distribution of annual nitrogen load was estimated and histograms of nitrogen load from each land use was evaluated. As a result, nitrogen load from large cities was large.

To improve the model accuracy, further research is needed both in field observation and model development. In Northeast Thailand, long-term observed water quality data is not available after 2004, however even in short-term observation, basin wide monitoring data in tributary level may be helpful for more accurate parameter calibration. In this study, we employed many assumptions to simplify the nitrogen balance model. For example, we neglected N uptake in forest, assuming that most of forest are mature with no net accumulation of biomass. This would be changed for well-managed, semi-natural or disturbed natural forest where uptake of N occurs. Because of sparsity of data, we ignored the spatial and temporal heterogeneity in fertilizer management within the basin (e.g. difference of N application rate and timing of application). These problems may cause errors in the calculation of N transformation processes. Despite all the uncertainties, our results provide a first insight in the magnitude and spatial distribution of nitrogen loading in Northeast Thailand, and this kind of model can be used in

the impact assessment of different management strategies for sanitation systems or farming practices.

In the future, climate change will accelerate the water cycle and severe droughts often occur in Northeast Thailand. Especially in dry season, nutrient concentration in large cities will increase due to the shortage of available water resource which dilute the nutrient concentration in drainage canal. And water environment in city will be degraded. Therefore, suitable sanitation system should be introduced to the city which have relatively large population density.

REFERENCES

- [1] Ao, T., Ishihira, H. and Takeuchi K. 1999: Study of distributed runoff simulation model based on the block type Topmodel and Muskingum-Cunge methods (in Japanese). Annual Journal of Hydraulic Engineering, JSCE, 43, 7–12.
- [2] Beven, K.J. and Kirkby, M.J., 1979: A physically based variable contributing area model of hydrology. Hydrological Sciences Bulletin, 24(1), 43–69.
- [3] Hanasaki, N., Kanae, S., Oki T and K. Mushiake 2003: Development of globally applicable reservoir operation model (in Japanese). Annual Journal of Hydraulic Engineering, JSCE, 47, 181–186.
- [4] Moriasi, D.N. , Arnold, J.G. , Van Liew, M.W. , Bingner, R.L. , Harmel, R.D. and Veith, T.L. 2007: Model evaluation guidelines for systematic quantification of accuracy in watershed simulations. Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers, vol.50(3), 885-900.
- [5] Suga Y., Hirabayashi Y., Kanae S. and Oki, T., 2005: Changes in river nitrate transport of the world resulting from increase in fertilizer use (in Japanese). Annual Journal of Hydraulic Engineering, JSCE, 49(1), 495–500.
- [6] Yoshida, K. Azechi, I., Hariya, R., Tanaka, K., Noda, K., Oki, K., Hongo, C., Honma, K. Maki, M. and H. Shirakawa, 2013; Future Water Availability in the Asian Monsoon Region: A Case Study in Indonesia, Journal of Developments in Sustainable Agriculture, 8, 25-31.

印旛沼流域における出水時の栄養塩類濃度と藻類増殖ポテンシャルの関係

北村 友一¹, 平山 孝浩¹, 小川 文章¹

¹ 国立研究開発法人土木研究所 水環境研究グループ 水質チーム

キーワード: 藻類増殖ポテンシャル・栄養塩・降雨時流出・印旛沼流域・点源及び面源汚染

抄録

閉鎖性水域での藻類増殖は水質汚濁の主要要因の 1 つで、この水質汚濁低減のためには、藻類増殖因子となる栄養塩類負荷量を低減する必要がある。出水時の栄養塩負荷量は明らかになりつつあるが、藻類増殖との関係は不明である。出水が藻類増殖に寄与するかどうかを明らかにするため、印旛沼流入河川において、土地利用の異なる 4 地点で出水時に数時間間隔で河川水を採水し、窒素、リン、金属濃度と藻類増殖ポテンシャル (Algal Growth Potential: AGP) を測定し、採水地点毎の栄養塩類と AGP 流出特性の把握、AGP と土地利用および金属濃度の関係について統計解析を行った。その結果、AGP 負荷量は、畑の割合が多い流域では出水時に増大し、市街地の割合が多い流域では、出水時に減少することがわかった。また、 Mg^{2+} 、溶存態ホウ素、 Ca^{2+} は、藻類増殖と正の相関が確認された。

1. はじめに

閉鎖性水域での藻類増殖は水質汚濁の主要要因の 1 つで、この水質汚濁を効率的に低減するためには、負荷源別に藻類増殖因子となる栄養塩類負荷量を明らかにし、優先順位をつけた負荷削減対策が必要である。陸域からの全栄養塩負荷量に占める畑など面源負荷の割合は高く、出水時の汚濁負荷量も無視できないと考えられる¹⁾。しかし、出水時の負荷量は、調査の困難さから定量的な把握は不十分で、出水が直ちに藻類増殖に寄与するかについても不明である。そこで、出水時の栄養塩類負荷量、出水の藻類増殖への寄与、藻類増殖と金属の関係評価を目的として、印旛沼流入河川において、土地利用の異なる 4 地点で出水時に数時間間隔で河川水を採水し、窒素、リン、金属濃度と藻類増殖ポテンシャル (Algal Growth Potential: AGP) を測定した。採水地点毎の栄養塩類と AGP の流出特性の把握、AGP と土地利用および金属濃度の関係について統計解析を行った。

2. 方法

印旛沼は千葉県北西部に位置し、北印旛沼 (6.26km²) と西印旛沼 (5.29km²) から構成され、富栄養化状態にある。調査河川は、土地利用が異なる採水地点を選択できる西印旛沼流入河川である高崎川とし、流出水に影響する土地利用や養豚の状況に着目し、特徴的な 4 地点を選定した。図-1 に高崎川流

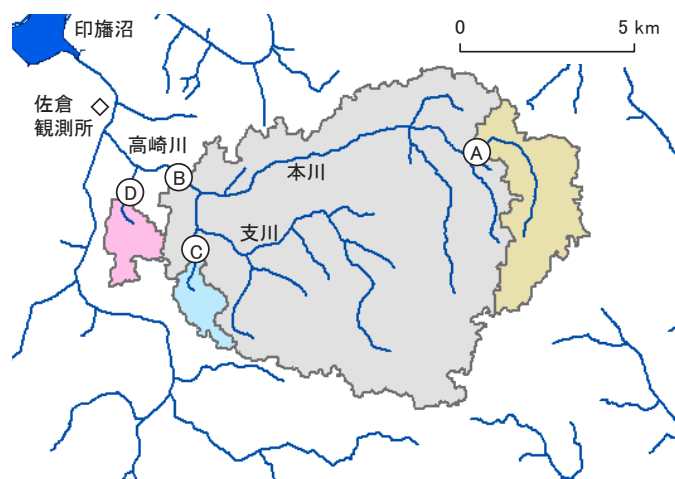


図-1 印旛沼の高崎川流域と採水地点

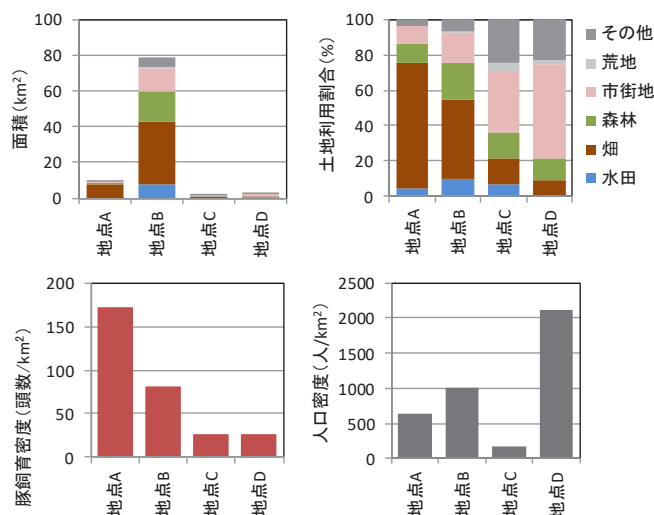
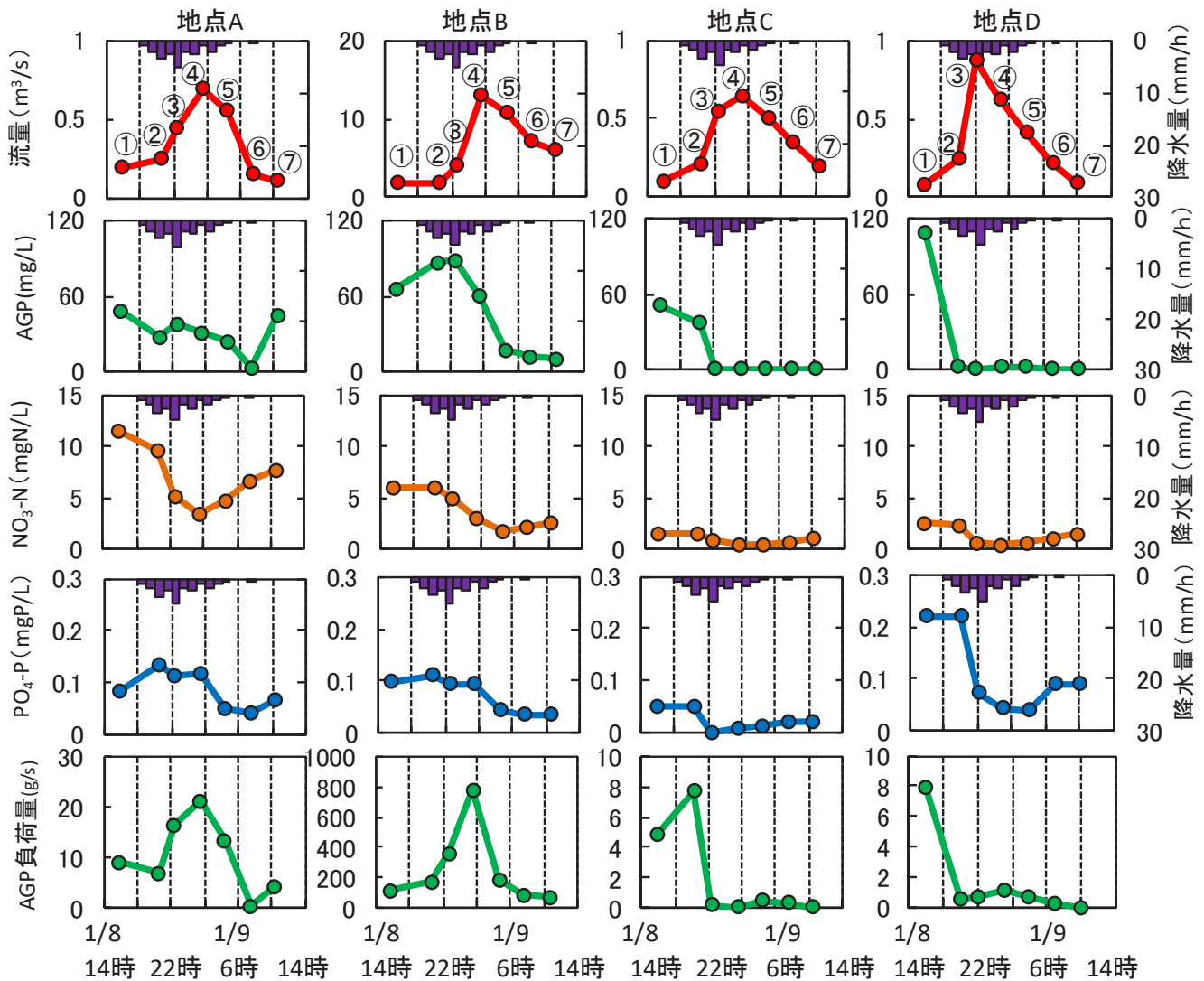


図-2 採水地点上流域の土地利用、豚飼育、人口密度



※ヒストグラムは時間降水量、流量の図中の①~⑦は 1/8~1/9 間の採水通し番号

図-3 出水時の降水量、河川流量、AGP、NO₃-N、PO₄-P 濃度および AGP 負荷量

域の採水地点を示した。図-2 には各採水地点より上流域の土地利用等の割合を示した。採水地点 A は、高崎川上流域で畑が 70%を占め、豚飼育密度が高い。地点 B は地点 A、C の下流で流域面積が大きく、畑と森林で 65%を占める。地点 C は市街地の割合が 35%であるが、工場用地の割合が高く人口密度は低い。地点 D は都市水路で市街地の割合が 53%を占め、人口密度が高い。地点 C、D の豚飼育密度は低い。

採水日は H26 年 1 月 8~9 日の降雨時で、佐倉観測所の雨量観測データでは、累積降雨量は 24.5mm、降雨のピークは 1 月 8 日 23 時頃であった。出水時の河川水は降雨開始時を含め 2~5 時間間隔で 7 回採水した。

河川水の水質分析項目は、SS、VSS、T-N、T-P、NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N、PO₄-P、DOC、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻、Fe、Al、Mn、Zn、Cu、B、Mo、Ni、Co、

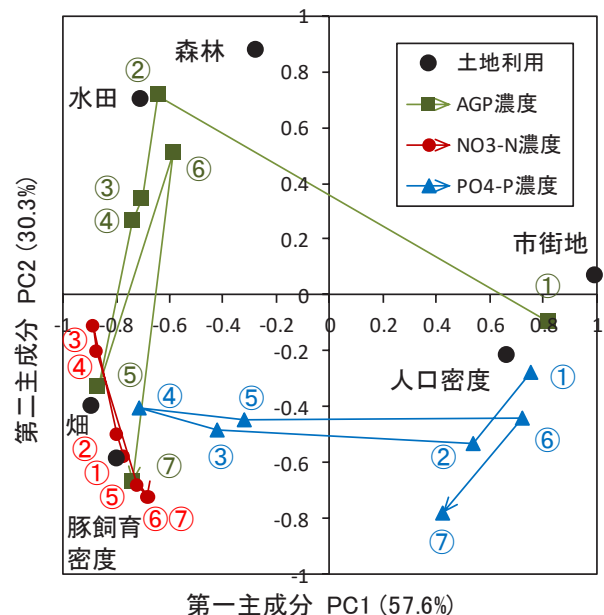
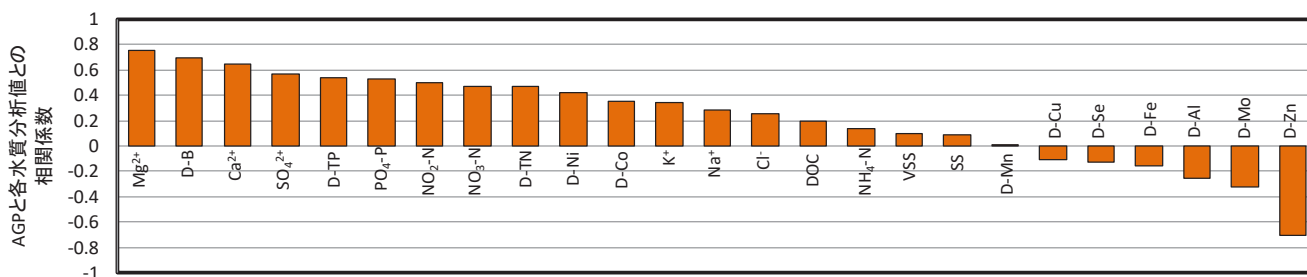


図-4 土地利用と AGP と主成分分析の結果



※図中の D：溶存態の略

図-5 AGP と各水質項目との相関係数

Se であり、金属は藻類増殖の必須元素を中心に選定した。

AGP 試験²⁾は次のとおり行った。4カ所の地点で数時間間隔で採水した全ての試料を測定対象とし、孔径 $0.45 \mu\text{m}$ のメンブレンフィルターでろ過し、ろ過試料を 300ml 容三角フラスコに 100mL 取り、緑藻であるムレミカヅキモを植種して 16 日間培養し、藻類増殖量を乾燥重量 (mg/L) として求めた。

3. 結果

3.1 出水時の AGP と栄養塩濃度の変化

図-3 に佐倉観測所での降水量、各採水地点の河川流量、AGP、NO₃-N、PO₄-P および AGP 負荷量 (濃度 × 流量) を示した。AGP は、地点 A では出水期間中に大きく増加することはなかった。下流の地点 B では、流量ピーク前に増加し、流量ピーク以降に減少した。地点 C、D は、出水前に高く、出水時は低くなっていた。NO₃-N 濃度は、地点 A で出水前が最も高く、出水時は希釈された。他の地点でも同様の傾向を示した。PO₄-P 濃度は、地点 D で出水前が高く、出水時は低下する傾向となった。出水時の AGP の変化は土地利用によって異なることが確認された。AGP 負荷量は、A、B 地点では出水時に増大し、C、D 地点では出水時に減少していた。

3.2 主成分分析による土地利用と AGP の関係

土地利用と出水時の AGP の変化について全体像を把握するため、主成分分析を行った。図-4 に、第一、第二主成分について各土地利用項目の主成分負荷量プロットを示す。第一主成分 (PC1) は、市街地、人口密度が + 方向に、森林、畑の割合が - 方向に分布したことから、集水域の都市化に関連する成分、第二主成分は、森林、水田が + 方向に、畑の割合および豚飼育密度が - 方向に分布したことから、畑の割合と豚飼育密度に関連する成分であると考えられる。次に、第一、第二主成分について、AGP、NO₃-N、PO₄-P の主成分負荷量を採水時間毎に算出し、図-4 に重ねてプロットした。AGP は、出水前は、市街地や人口密度に近い位置にプロットされ、出水時は森林や畑の方向にプロットが移動した。この解析からも AGP は、出水前は市街地、出水時は畑や森林の影響を受けることがわかった。

NO₃-N は、出水期間中、畑、豚飼育密度と近い位置にプロットされ、PO₄-P 出水前は市街地に、出水時は畑の近くにプロットされた。

3.3 藻類増殖因子の解析結果

図-5 は、全測定試料を用いて AGP と溶存態の各水質測定項目を単相関解析したときの相関係数である。窒素、リンが藻類増殖因子であることは知られているが、この他にも AGP と正の相関を示すものがあった。AGP と高い正の相関 ($r=0.6$ 以上) を示した項目は、Mg²⁺、溶存態-B (ホウ素)、Ca²⁺ であり、こうした金属類も藻類増殖に寄与している可能性があった。

4. 結論

出水時の栄養塩類負荷量、出水の藻類増殖への寄与、藻類増殖と金属の関係評価を目的として、印旛沼流域において出水時の栄養塩類と AGP の流出特性の調査を行った。AGP と土地利用および金属濃度の関係については主成分分析、単相関解析から評価した。

本研究で得られた主な知見を以下に示す

- (1) 出水時の AGP 負荷量解析の結果、AGP 負荷量は、畑の割合が多い流域では出水時に増大し、市街地の割合が多い流域では出水時に減少することがわかった。
- (2) 主成分分析から AGP と土地利用の関係を解析した結果、AGP は、出水前は市街地、出水時は畑や森林の寄与を受けることがわかった。
- (3) AGP と各水質項目の単相関解析から、藻類増殖には、窒素、リンの他に Mg²⁺、溶存態-B、Ca²⁺ が寄与している可能性があった。

引用文献

- [1] 岡本 他：流域スケールで見た物質動態特性の把握に関する研究(2)、平成 27 年度下水道関係調査年次報告書集、pp.123~172、土木研究所資料 第 4347、2017
- [2] 日本下水道協会：下水試験方法、pp.380~387、2012

Biochemical Potential of Freshwater, Brackish, and Sea Sediments for Removing Antimony from Water Environment

Satoshi Soda and Keina Oka

College of Science and Engineering, Ritsumeikan University

Keywords: antimony, bacteria, Lake Biwa, brackish lake

ABSTRACT

Biochemical potential of sediment samples for removing antimony from water phase was evaluated. The sediment samples collected from Lake Biwa North and South Basins, Asoumi Sea (a brackish inland sea), and Wakasa Bay were suspended in 20 mL solution containing 100 mg-Sb/L as $K[Sb(OH)_6]$ under anaerobic condition at 28°C for 3 weeks. The sediment samples of Lake Biwa showed biochemical potentials for removing Sb from water phase by formation of orange precipitation (Sb_2S_3) although the Sb removal was low (10-30%). The sediment samples of Asoumi Sea and Wakasa Bay showed high biochemical potentials of Sb removal (80-90%) by formation of white precipitation ($Sb_2(OH)_3$). Bacterial colonies with antimonate-reducing and Sb_2S_3 -accumulating abilities were obtained from the sediment samples of Lake Biwa and Asoumi Sea. Bacteria with the biochemical potential for soluble Sb removal would be ubiquitously distributed in lakes and seas in Japan.

1. INTRODUCTION

Various natural, agricultural, and industrial processes can cause antimony contamination of surface waters. In Japan, the effluent standard for antimony has not been established yet in the Water Pollution Control Law, but antimony has been selected as a monitoring-required water quality parameter of Environmental Quality Standards for Water Pollution. Actually, there have been reported that the Sb concentration in river downstream of some factories exceeds the guideline value (≥ 0.02 mg/L).

However, removal processes for antimony from water phase have not been fully established. An alternative for cost effective antimony removal might be biological treatment using antimonate-reducing bacteria. Figure 1 shows a hypothetical mechanism of the Sb removal from water phase. Bacterial reduction of antimonate into antimonite, resulting in formation of diantimony trioxide (Sb_2O_3) and stibnite (Sb_2S_3), is known to play an important role in detoxification of soluble antimony in the natural environment^[1-3]. Sb_2O_3 ($Sb_2(OH)_3$) and Sb_2S_3 are easily removed from the aqueous phase because of its insoluble characteristics.

However, little is known about antimony-removing bacteria in water environment in Japan. In this study, the biochemical potential of lake and sea sediments for removing antimony was evaluated.

2. METHODS

2.1 Sediment samples

Characteristics of sediment samples used in this study are

shown in Table 1. The sediment samples were collected from Lake Biwa North Basin near Chikubushima island, South Basin off the coast of Ogoto, Asoumi Sea which is a brackish inland sea, and Wakasa Bay in 2017.

2.2 The antimony removing test

A basal salt medium containing 100 mg-Sb/L $K[Sb(OH)_6]$, 2mM lactate as the sole carbon source, 20mM HEPES, 0.1 g/L KH_2PO_4 , 0.1g/L K_2HPO_4 , 0.48g/L NH_4Cl , 0.2g/L $NaCl$, 1.2mg/L H_3BO_3 , 0.34mg/L $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.18mg/L $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.2mg/L $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 0.44mg/L $ZnCl_2$, 0.4g/L $CaCl_2$, and 0.48 g/L (HS-BSM) or 0.048 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (LS-BSM) was used for the antimony removing test (pH 7.2). For brackish and sea sediment, 26 g/L $NaCl$ was added to the media (pH 7.6).

Portions of the sediment sample (4mg wet weight) were inoculated into 20 mL of HS-BSM or LS-BSM in 50-mL serum bottles. Headspace of the bottles were replaced with N_2 gas for creating anaerobic condition. The bottles were sealed with rubber stoppers and capped with aluminum crimp seals and incubated on a rotary shaker (100rpm) at 28°C. After 4weeks 1 mL of each culture was transferred to the fresh medium.

2.3 Analytical procedures

Water samples (1 mL) were periodically collected from the bottles and centrifuged (21,900×g, 10 min) for removing the cells and precipitates. The Sb concentration in the water samples was determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES Agilent 700 Series, Agilent Technologies, Inc.).

Bacteria were enumerated by the poured plate method with the LS-BSM and the HS-BSM with 15 g/L agar. The

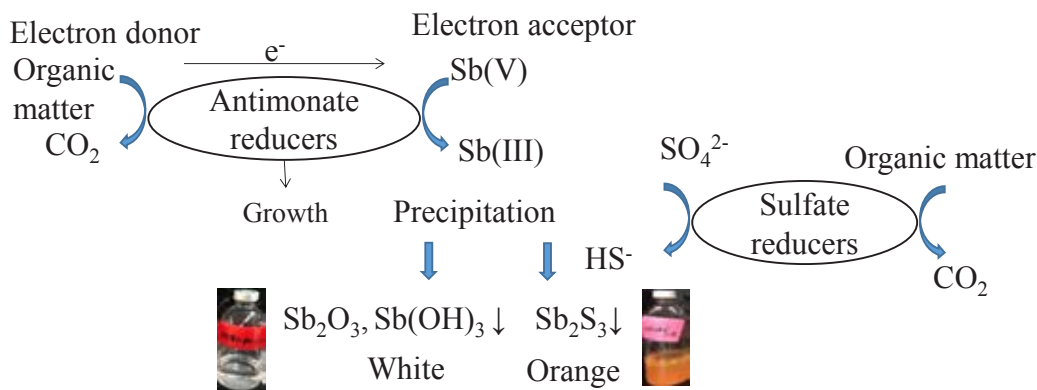


Fig.1 A hypothetical mechanism of biochemical removal of antimony from water phase.

Table 1. Sediment samples used in the antimony removing test

Sampling place		date	Air /Water temp.	Depth	Note
Lake Biwa North Basin (near Chikubu island, Shiga Pref.)		2017/10/1	19°C/8°C	70m	ORP -270mV, grey, silty
Lake Biwa South Basin (off the coast of Ogoto, Otsu, Shiga Pref.)		2017/10/1	19°C/24°C	4m	ORP -156mV, dark green, silty, sandy, rotten-egg smell
Asoumi Sea (Miyazu, Kyoto Pref.)		2017/9/19	20°C/22°C	10.5m	ORP -420mV, black, rotten-egg smell
Wakasa Bay (Matsubara beach, Fukui Pref.)		2017/9/7	25°C/25°C	0.5m	Sandy, aerobic

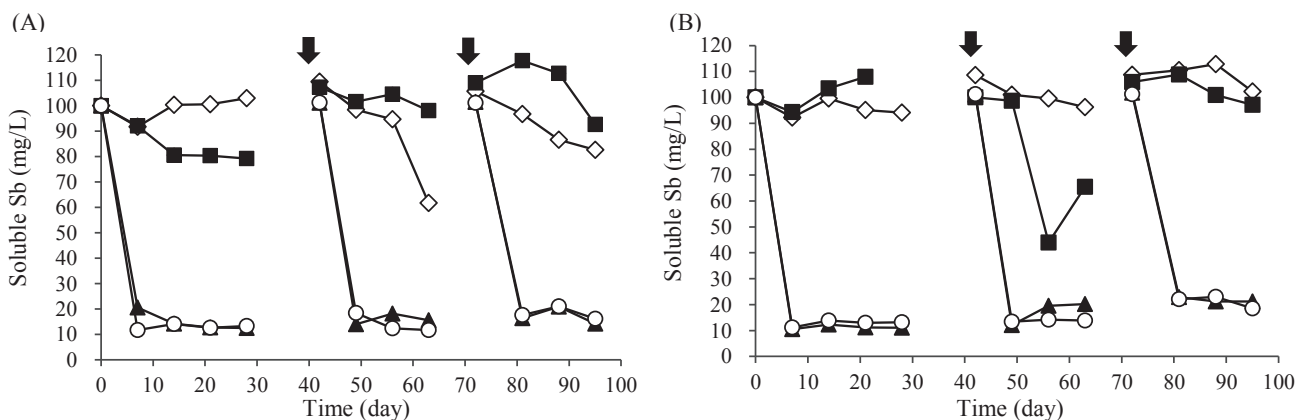


Fig.2 Time courses of soluble antimony concentrations in the microbial cultures derived from sediment samples. Cultures were enriched HS-BSM (A) and LS-BSM(B). Sediment samples were collected from Lake Biwa North Basin (open diamonds), South Basin (closed squares), Asoumi Sea (closed triangles), and Wakasa Bay (open circles). Arrows indicate the transfer of the culture into new medium.

plates were incubated in an anaerobic box (anaeropack kenki, Sugiyama-gen, Co. Ltd.) at 25°C for 2weeks.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Biochemical removal of Sb by sediment samples

Time courses of removal of soluble antimony by the sediment samples are shown in Fig. 2. The sediment sample of Lake Biwa South Basin removed 20% antimony

from the HS-BSM within 1 week in the first test. Although the Sb removal was low, the sediment samples of Lake Biwa North Basin in the HS-BSM and of South Basin in the LS-BSM and the HS-BSM formed specific orange precipitation, indicating Sb₂S₃, as shown in Fig. 1. Although the Sb removal did not increased, similar results were obtained in the second and third tests.

Table 2. Summary of the biochemical potential of the sediment samples for antimony removal

Sediment sample Medium	Lake Biwa North Basin HS-BSM	Lake Biwa South Basin HS-BSM	Asoumi Sea HS-BSM	Asoumi Sea LS-BSM	Wakasa Bay HS-BSM
Precipitates' color	Orange	Orange	White	Orange	White
Sb removal	1st: 0% 2nd: 50% 3rd: 30%	1st: 20% 2nd: 10% 3rd: 30%	1st: 90% 2nd: 85% 3rd: 85%	1st: 90% 2nd: 80% 3rd: 80%	1st: 90% 2nd: 90% 3rd: 85%
Viable counts after the 3 rd removal test	1.1×10^4 CFU/mL	1.1×10^3 CFU/mL	1.8×10^3 CFU/mL	3.7×10^3 CFU/mL	$<1.0 \times 10^1$ CFU/mL
Colonies on the agar plates	Yellowish orange colonies	Yellow colonies	White colonies	Yellow on whole agar	-

3.2 Bacteria in the cultures derived from sediment samples

The sediment samples of Asoumi Sea and Wakasa Bay showed high antimony removals of 80-90% from the LS-BSM and the HS-BSM in the tests. The sediment samples of Asoumi Sea formed orange precipitation in the LS-BSM. However, the other sea sediment samples showed white precipitation, indicating $\text{Sb}_2(\text{OH})_3$, as shown in Fig. 1. The sediment sample of Wakasa Bay in the HS-BSM formed orange precipitate in the second test and white precipitation in the third test, suggesting co-existence of Sb_2S_3 forming bacteria and $\text{Sb}_2(\text{OH})_3$ forming bacteria.

3.3 Bacteria related to Sb removal

Figure 3 shows colonies obtained from the bacterial cultures. Yellowish-orange colonies of 10^3 - 10^4 CFU/mL were formed on the HS-BSM from the bacterial cultures derived from the sediment samples of Lake Biwa. Yellowish-orange colonies and white colonies were respectively formed on the LS-BSM and the HS-BSM from the bacterial culture derived from the sediment sample of Asoumi Sea. Those bacterial colonies did not show yellowish-orange under aerobic condition or on the BSM excluding Sb under anaerobic condition. These results suggest that bacteria forming yellowish-orange colonies have antimonate-reducing and Sb_2S_3 -accumulating abilities.

4. CONCLUSION

The biochemical potential of the sediment samples for antimony is summarized in Table 2. The freshwater sediments of Lake Biwa showed biochemical potentials for removing soluble antimony by formation of orange precipitation (Sb_2S_3). The brackish sediment sample of Asoumi Sea and the sea sediment sample of Wakasa Bay showed high biochemical potentials for removing soluble antimony by formation of white precipitation ($\text{Sb}_2(\text{OH})_3$). Bacteria with the biochemical potential for the Sb removal

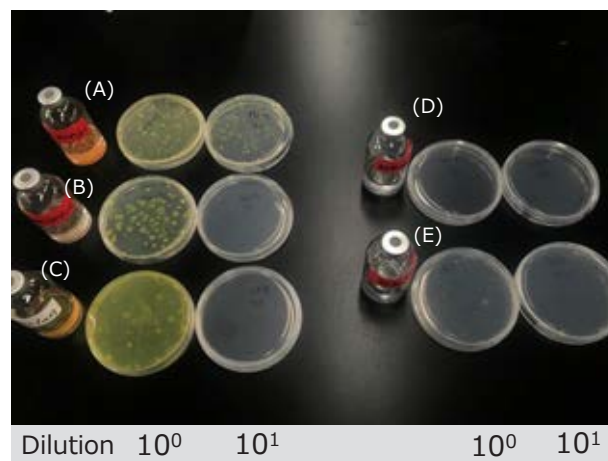


Fig.3 Colonies in the microbial cultures derived from sediment samples. Cultures were enriched from Lake Biwa North Basin in HS-BSM (A), Lake Biwa South Basin in HS-BSM (B), Asoumi Sea in LS-BSM (C), Asoumi Sea in HS-BSM (D), and Wakasa Bay in HS-BSM (E).

would be widely distributed in lakes and seas in Japan.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by JSPS KEKENHI Grant Number 15K12230.

REFERENCES

- [1] Abin, A.C. and Hollibaugh, T.J.: Dissimilatory antimonite reduction and production of antimony trioxide microcrystals by a novel microorganism. *Environmental Science and Technology*, Vol. 48, pp. 681-688, 2014.
- [2] Nguyen, V. K. and Lee, U. J.: Isolation and characterization of antimony-reducing bacteria from sediments collected in the Vicinity of an antimony factory. *Geomicrobiology Journal*, Vol. 31, pp. 855-861, 2014.
- [3] Wanga, H., Chen, F., Mu, S., Zhang, D., Pan, X., Lee, J.D., and Chang, S.J.: Removal of antimony ($\text{Sb}(\text{V})$) from Sb mine drainage: Biological sulfate reduction and sulfide oxidation-precipitation. *Bioresource Technology*, Vol. 146, pp. 799-802.

P5-10

平成 27 年 9 月関東・東北豪雨の影響を受けた土壌の無機元素組成および細菌群集構造解析

齋藤明葉¹, 坂上伸生¹, 成澤才彦¹, 伊藤哲司², 西澤智康¹¹茨城大学農学部, ²茨城大学人文社会科学部

キーワード: 河川氾濫, 細菌群集構造, 重金属汚染, 常総市, 流域管理

抄録

平成 27 年 9 月関東・東北豪雨により, 常総市では鬼怒川で破堤・溢水が発生し, 大量の土砂水が周辺地域の土壌生態系に流れ込んだ。豪雨災害によって引き起こされる被害は, 住居や産業施設, 農業資産などに留まらず, 土壌生態系にも大きな影響をおよぼす。本研究では, 関東・東北豪雨による浸水の影響を受けた土壌生態系に関する環境情報を収集・提供すること目的として, 常総市における浸水地域土壌の化学性分析および土壌細菌群集構造の解析を行った。洪水堆積物の影響を受けた土壌の無機元素組成や希釈平板法による生細菌数の調査および土壌細菌群集構造の T-RFLP 解析を行った結果, 氾濫により砂が堆積することで生じる土壌の理化学性の変化と同時に, 土壌微生物性へも影響がおよんでいることが示唆された。土壌生態系に関わる総合的な情報を蓄積していくことで, 浸水被害を受けた農耕地の機能回復に資する付加情報となることが期待される。

1. はじめに

2015 年 9 月 7 日に発生した台風 18 号は, 関東地方関東北部から東北地方南部を中心に豪雨をもたらし, 9 月 7 日から 11 日までの総雨量は関東地方で 600mm, 東北地方で 500mm を超えた。このうち, 9 月 9 日から 11 日にかけて発生した豪雨は各地で河川氾濫を発生させ, 気象庁により「平成 27 年 9 月関東・東北豪雨」と命名された^[1]。この豪雨により常総市では, 鬼怒川で破堤・溢水が発生し, 大量の土砂水が周辺地域の土壌生態系に流れ込んだ。これを受け, 茨城大学では常総市における大規模な水害に際し, 支援協働研究を行う「茨城大学平成 27 年関東・東北豪雨調査団」を結成し, これまでに調査を行ってきた。

豪雨災害によって引き起こされる被害は, 住居や産業施設, 農業資産などに留まらず, 土壌生態系にも大きな影響をおよぼす。本研究では, 関東・東北豪雨による浸水の影響を受けた土壌生態系に関する環境情報を収集・提供すること目的として, 常総市における浸水地域土壌の化学性分析および土壌細菌群集構造の解析を行った。

2. 方法

2016 年 11 月に市南部の介護施設内の家庭菜園土壌(浸水した D1, D2 および浸水しなかった微高地の d1) および浸水区域外の雑木林(d2)から表層土壌(0~5cm)

を採取した。また, 2017 年 9 月に市北部の溢水箇所付近から市中部にかけて, 自然堤防(u1)および浸水した水田や家庭菜園の土壌(U1~U5)を採取した(図 1)。採取した土壌は pH(H₂O), 含水率および全炭素・全窒素含量を測定した。また, 加圧整形ディスクを作成し, エネルギー分散型蛍光 X 線元素分析装置により元素組成の半定量分析を行った。

微生物分析については, 細菌群集構造を把握するため, 希釈平板法による生細菌数の調査および土壌細菌群集構造の T-RFLP 解析^[2]を行った。



図 1 土壌採取地点および浸水被害範囲

3. 結果および考察

溢水箇所付近で採取した土壌(U1, U2, u1)は含水率, 全炭素量および全窒素量が低く, 既往研究^[3]と同様に, 粘土や有機物の含有量が非常に少なく, 砂質の土壌が分布していた。

生細菌数は土壌中の水分量と比例関係にあるとされている^[4]。生細菌数と含水率のグラフからは含水率が低いとき, 生細菌数が減少する傾向見られた。細菌は団粒内部, すなわち, より小さい孔隙内に豊富に存在していると考えられる。土壌 pH が中性を示した U1, U2, および u1 は, 新規に堆積した砂質土壌で構成されているため, 生細菌数が低かったと推察される。

T-RFLP プロファイルに基づくクラスター解析(図 2)から, 浸水土壌(U4, D1, D2, D3)と非浸水土壌(d1, d2)の間で類似性が高かったが, 土壌 U1, U2, U3, U5, u1 とは類似性は低かった。細菌群集プロファイルに基づく多変量解析法の CCA 解析(図 3)では, 細菌群集の差異は, 主に含水率および pH による影響によるものであることが示され, また, 含水率および土壌 pH が生菌数に影響を及ぼしており, 河川の氾濫により堆積した砂は土壌細菌群集構造にも影響を及ぼすことが示唆された。

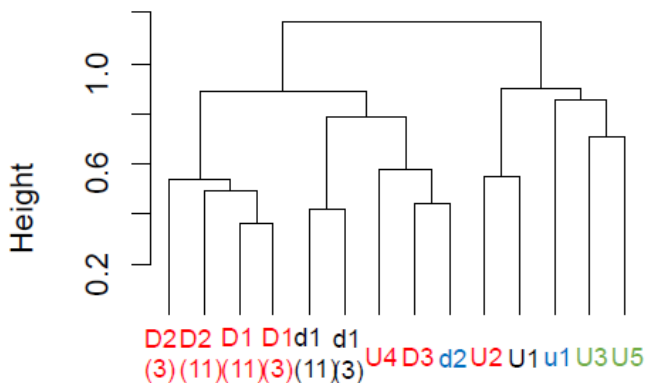


図 2 T-RFLP プロファイリングに基づく階層クラスター解析

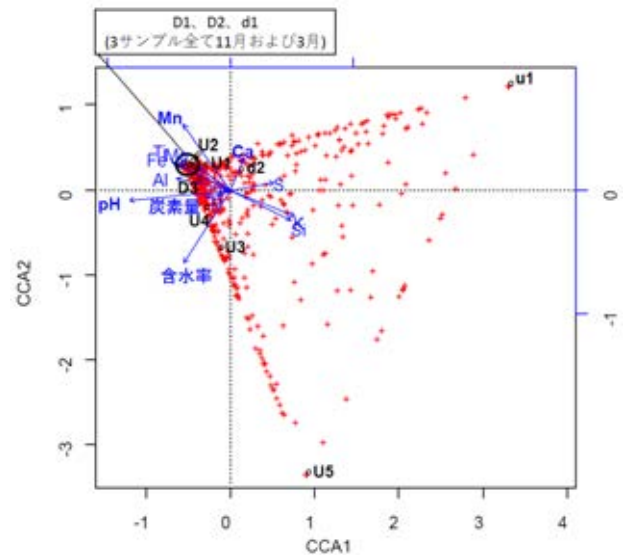


図 3 T-RFLP プロファイリングに基づく正準対応分析

4. 結論

2015年9月の豪雨により常総市では鬼怒川の堤防の一部が破堤・溢水し, 大量の土砂水が周辺地域の土壌生態系に流れ込んだ。浸水の影響を受けた土壌生態系の化学性および生物性に関する環境情報を収集した結果, 氾濫により砂が堆積することで生じる土壌の理化学性の変化と同時に, 土壌微生物性へも影響がおよんでいることが示唆された。土壌生態系に関わる総合的な情報を蓄積していくことで, 浸水被害を受けた農耕地の機能回復に資する付加情報となることが期待される。

引用文献

- [1] 気象庁: 平成 27 年 9 月関東・東北豪雨及び平成 27 年台風 18 号による大雨等, 災害時自然現象報告書, 2015 年第 1 号, 2015.
- [2] 西澤智康・小松崎将一・金子信博・太田寛行, 末端制限断片 (T-RFs) プロファイル情報に基づく土壌微生物群集構造解析, 土と微生物, 64, 33-40, 2010.
- [3] Matsumoto D, Sawai Y, Yamada M, Namegaya Y et al.: Erosion and sedimentation during the September 2015 flooding of the Kinu River, central Japan., Scientific Reports, 6, 1-10, 2016.
- [4] 古坂澄石・服部勉・佐藤匡・都留信也ほか: 土の微生物, 1978

P5-12

駒止湿原開墾跡地におけるブナ生育に関わる共生菌類の探索と植樹試験への利用

猪瀬有美¹, 高島勇介¹, 郭 永¹, 坂上伸生¹, 西澤智康¹, 渡邊眞紀子², 成澤才彦¹

¹茨城大学農学部, ²首都大学東京都市環境学部

キーワード: 耕作放棄地, 湿原管理, 植生回復, 土壌再生, ブナ林

抄録

駒止湿原では、2000 年よりブナ稚樹の植樹が試みられてきたが、一部地域では生育が不良で植生回復に至っていない。本研究では、ブナ二次林および開墾跡地に生育するブナの共生菌類を調査し、生育促進に関わる外生菌根菌あるいは内生菌類を選抜し、ブナ稚樹への接種および植樹試験をおこなった。ブナ林から開墾跡地に掛けて調査区を設置して土壌コアおよびブナ実生を採取し、菌根形態型を調査したところ、菌根チップ総数および出現形態型数は、ブナ林区から開墾跡地にかけて減少する傾向にあった。次に、ブナ実生根部より根部内生菌を調査して選抜した 2 菌株を用いて、ブナ稚樹に接種して植樹試験をおこなった。今後、本研究で選抜した菌類による影響の調査を継続するとともに、同菌種を用いた実験室内での接種試験も行い、菌根菌-内生菌-宿主植物の相互関係を明らかにしていく。

1. はじめに

駒止湿原は福島県南会津町および昭和村の境界付近に位置しており、戦後の農地開墾により失われたブナ林を回復させるため、2000 年よりブナ稚樹の植樹が試みられてきた¹⁾。植樹されたブナは、一部地域では良好な生育を見せているものの、生育が不良で植生回復に至っていない場所も認められる。本研究では、ブナの生育において重要な役割を担う外生菌根菌に着目してブナ二次林および開墾跡地に生育するブナの共生菌類を調査し、ブナの生存・生育の促進に関わる外生菌根菌あるいは内生菌類を選抜し、ブナ稚樹への接種および植樹試験をおこなった。

2. 方法

2016 年 8 月にブナ林から開墾跡地に掛けて幅 10 m、長さ 30 m の調査区を設置した(図 1)。優占する植物種を考慮し、それぞれ 10 m×10 m のブナ林区、境界区および開墾跡地として区分した。

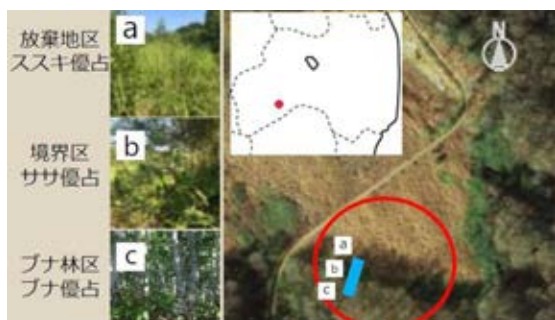


図 1 駒止湿原周辺に設置した調査区

調査区内外の放棄地区、境界区およびブナ林区から土壌コアおよびブナ実生を採集した。土壌コアについては、コア内に含まれる菌根チップ数を計数し、含まれる形態型の割合を求めた。ブナ実生については、グリッドシート法により菌根形成率を求めた。形態型別に形成率を算出し、形態型に基づく外生菌根菌群集構造の類似性を比較した。その後、Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) 法により菌根チップから DNA を抽出し、菌根形成菌種の同定を行った。

次に、ブナ実生根部において形成頻度が高いまたは低い形態型を基準に選抜した菌根片および非菌根(計 156 片)を用いて、洗浄法および表面殺菌を行い、根部内生菌の分離を行った。得られた分離菌株の培養菌糸から DNA を抽出し、菌種を同定した。以上の結果から、調査地域においてブナと密接な関係にあると推察される菌類 2 種を選抜して液体培養をおこない、樹高 30~50 cm 程度のブナ稚樹の根部に接種し、開墾跡地において植樹試験をおこなった。試験は共生菌 2 種と対照の 3 区を設け、1 反復あたり 12 本、それぞれ 3 反復(計 108 本)で植樹区を設定した。

3. 結果および考察

土壌コアおよびブナ実生より、これまでに 66 種類の菌根形態型が確認された。調査区内における土壌コア内の菌根チップ総数および出現形態型数は、ブナ林区から開墾跡地にかけて減少する傾向にあった。ブナ実生の菌根形成率も同様の傾向を示した。調査地における

外生菌根菌群集の特徴は、ブナ林区・境界区におけるブナ実生のグループと開墾跡地におけるブナ実生のグループに分かれており開墾跡地ではブナ林内とは異なる菌類相であることがブナの生育の妨げになっていることが考えられた。

菌根チップから抽出した DNA により菌根形成菌種の同定を行った結果、外生菌根菌のみではなく、根部内生菌を含む系統群である *Helotiales* 目菌類が認められたことから、ブナ実生の生育には、共生菌類として外生菌根菌だけではなく根部内生菌も関与していることが考えられた。そこで、ブナ実生根部より根部内生菌 97 菌株を分離し、うち 83 菌株を分子同定した。分離した 65 菌株中、33 菌株が *Helotiales* 目菌類であり、その中で 21 菌株が *Leptodontidium* 属菌であった。これらの菌類は主にブナ林区および境界区に認められ、菌根の形態型には依存せずに分離された(図2)。放棄地区でも同属の *L. orchidicola* が分離されたことから、調査区において、*Leptodontidium* 属菌はブナの生育と密接に関係していることが推察された。また、外生菌根菌として報告のある *Cenococcum geophilum* を菌根部から 2 菌株分離された。以上より、現地における開墾跡地への植樹試験に用いる接種菌株として、根部内生菌 *Leptodontidium* sp. および外生菌根菌 *C. geophilum* を選抜した。

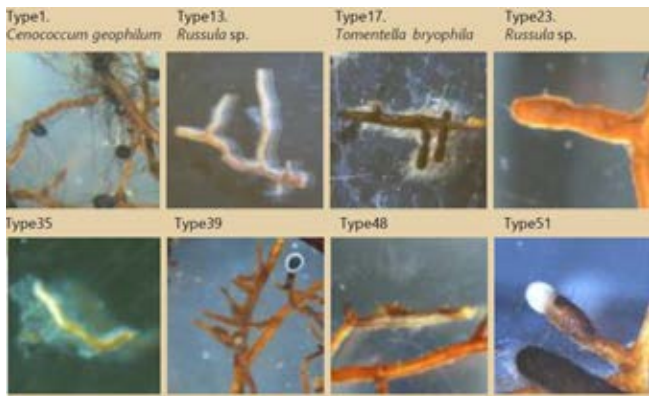


図2 *Leptodontidium* 属菌が分離された菌根形態型

選抜菌株は、1.5% Malt Extract 液体培地で培養し、菌糸懸濁液(1.0×10⁸X 菌糸片/mL)を作成した。現地において 4 m×5 m の植樹区を 9 つ(対象区、*Leptodontidium* sp.区および *C. geophilum* 区を 3 反復)設置し、それぞれの区に 12 本のブナ稚樹を、1m 以上の間隔を空けて植樹した(図3)。*Leptodontidium* sp.区および *C. geophilum* 区については、菌糸懸濁液を現地で希釈し、大型のビニール袋内でブナ稚樹の根部と接触させることで接種した後、速やかに植樹をおこなった。これらの稚樹については、主幹長や葉の葉緑素含量によって生育評価を行っていく。



図3 現地植樹試験の様子

4. 結論

樹木の生育には共生菌類の関与が必要不可欠であり、駒止湿原におけるこれまでの植樹活動でも、山引苗を利用するなど、従来の森林環境に学んだ取り組みが多数実施されている^[2]。今後、本研究で選抜した菌類による影響の調査を継続するとともに、同菌種を用いた実験室内での接種試験も行い、菌根菌-内生菌-宿主植物の相互関係を明らかにしていく。

引用文献

- [1] 駒止湿原保存方策調査検討委員会: 駒止湿原保存方策調査, 2004.
- [2] 伊藤祥子・谷本祥子: 駒止開墾地におけるブナ山引き苗の植林と育苗に関する基礎的研究, 駒止湿原保存方策調査, pp. 111-111, 2004.