

# 水田土壌のアナモクス活性について

## The study of ANAMMOX activities in a paddy soil

○黒田久雄\*, 八重樫大祐\*, 山岸昂夫\*\*, 犬伏和之\*\*\*, 諏訪裕一\*\*\*\*

○KURODA Hisao\*, YAEGASHI Daisuke\*, YAMAGISHI Takao\*\*, INUBUSHI Kazuyuki\*\*\* and SUWA Yuichi\*\*\*\*

1. はじめに 湖沼の富栄養化を防ぐために、生活系だけでなく面源系からの窒素流入負荷の削減も重要である。富栄養化の原因の一つである面源系からの流入窒素は、窒素濃度が高い地域の場合、水田や湿地における窒素除去機能を利用して浄化ができることが知られている。水田のような湿地を利用する水質浄化技術は、施設を利用する窒素除去と異なり、コストやエネルギーをあまり利用せずに行うことができる。この窒素浄化メカニズムは主に植生浄化と脱窒作用の二通りの面から考えられてきた<sup>1)</sup>。植生吸収の場合、植生回収時の労力と回収した植生の処理に困難が伴う。その点、脱窒作用による浄化は、水田・湿地に湛水するだけで浄化可能であり、メンテナンスの容易さからも有効な手法である。ただし、脱窒が完全に行われない場合、亜酸化窒素ガスの発生、内部生産によるCOD濃度の増加、また、長期間脱窒を行うことによる有機物不足に伴う脱窒能力の低下などの問題がある。一方、近年、異なる脱窒作用が報告されるようになってきた。初めは、オランダデルフト工科大学のグループが排水処理施設の窒素除去過程で発見し<sup>2)</sup>、他の研究者も自然界にも存在することを報告するようになってきた<sup>3)</sup>。この脱窒作用は、嫌気性アンモニア酸化(ANAerobic AMMonium Oxidation; ANAMMOX)と呼ばれている。この窒素除去のメカニズムは、亜硝酸とアンモニウム塩だけから窒素ガスを生成させる微生物反応である。つまり、窒素除去に有機物がいらぬため脱窒問題の多くは解決されることになる。この反応は、地球上の窒素循環の中で無視できない程度の比重を占めていると考えられるようになってきた。自然界でのANAMMOX反応は、外洋の無酸素水塊、河口域の干潟、淡水湖などで調査研究がなされてきている。しかし陸圏のANAMMOX反応は、未だ不明のままであり、ANAMMOXによる脱窒過程が存在するのかどうかについても検討さえされていない状況である。そこで、著者らは、2007年に予備実験として水田土壌でのANAMMOX活性の測定を試みることにした。その結果、水田土壌でも顕著なANAMMOX活性が見いだされたため、2008年からANAMMOX活性の季節変動を調べることを目的に調査を開始した。

2. ANAMMOX反応による窒素浄化メカニズム 今まで知られている脱窒反応は、有機態窒素が硝酸態窒素まで形態変化し、還元状態の下、単純化した(1)式<sup>4)</sup>のように有機物などの水素供与体を利用し、硝酸態窒素から酸素を取ることによって脱窒反応を起こす。

○脱窒反応



一方、ANAMMOX反応は、(2)式のような脱窒反応を起こす。

○ANAMMOX反応



そのため、ANAMMOX反応では、有機物欠乏の問題は発生しない。

\*茨城大学農学部(College of Agriculture, IBARAKI University) \*\*産業総合技術研究所(National Institute of Advances Science and Technology) \*\*\*千葉大学大学院園芸学研究科(Graduate School of Horticulture, CHIBA University) \*\*\*\*中央大学理工学部(Faculty of Science and Engineering, Chuo University) キーワード: ANAMMOX反応, 脱窒, 水田土壌

### 3.調査方法

3.1 試験区概要 調査圃場は、茨城県阿見町大形地区の試験圃場に 25m×1.4m の無植生区の試験区を用いて行った。この試験区は、1991 年から藻類以外の植生を除去した状態で、通年湛水条件下にある水田である。

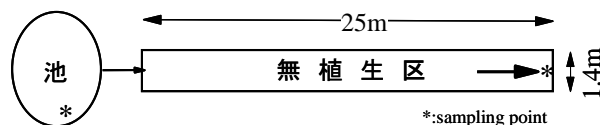


Fig.1 試験区概要

3.2 調査方法 実験は、季節変化をみるため、5月9日、8月1日、11月7日の3ヶ月おきの計3回採土を行った。実験に用いた土壌は、試験区の入口から約1m地点、表層土壌から深さ5cmまでのものを用いた。採土した土壌のANAMMOX活性を測定するため、産業技術総合研究所のGCMSで測定を行った。脱窒とANAMMOX活性の違いを調べるためには、通常では窒素ガスで違いが見られないため、 $^{15}\text{N}$ で標識を付けた $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ を用いることとした。例えば、 $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ と $^{14}\text{NO}_3\text{-N}$ または $^{14}\text{NH}_4\text{-N}$ と $^{15}\text{NO}_3\text{-N}$ の時、ANAMMOX反応では $^{29}\text{N}_2$ が検出される。一方、脱窒は、 $^{14}\text{NH}_4\text{-N}$ と $^{15}\text{NO}_3\text{-N}$ の場合 $^{30}\text{N}_2$ として検出される。この質量の違いを利用して両者の活性を測定することとした。測定は、実験の開始から終了まで還元条件下で行った。

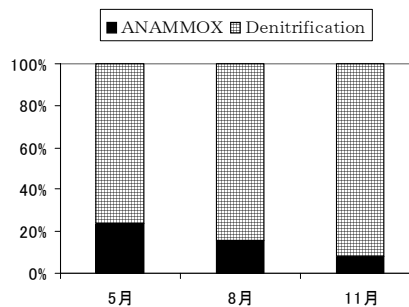


Fig.2 脱窒と ANAMMOX 活性の比率

4. 調査結果と考察 脱窒と ANAMMOX 活性の窒素除去活性における割合を Fig.2 に示した。本試験区の水田土壌における ANAMMOX 活性は、5月～11月のすべての時期に確認された。全体の窒素除去活性に対して、5月は24.0%、8月は15.5%、11月は8.0%が ANAMMOX 活性の割合であった。ANAMMOX 活性の割合は、5月に最も高かったが、その後低下していった。8月は、水温が高いため脱窒活性の方が ANAMMOX 活性よりも強く反応したなど、温度との関係も一因である可能性がある。しかし、今回の結果だけでは、この季節変動を説明することは難しい。

5. おわりに 以上の結果から、陸圏の水田土壌中でも ANAMMOX 活性を測定することに成功した。無植生区では、ANAMMOX 反応のピークは5月にあり、夏から秋にかけて活性は低下することがわかった。その割合は、5月24.0%、8月15.5%、11月8.0%が ANAMMOX 活性によることを明らかになった。しかしながら、この季節変動が起きる要因などについては不明であるため、現在検討中である。

### 参考文献

- 1) 田淵俊雄、篠田鎮嗣、黒田久雄、休耕田を活用した窒素除去の試み、農土誌、第61巻12号、pp.19-24(1993)
- 2) ASTRID A. VAN DE GRAAF et.al. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process, Appl. Environ. Microbiol. 61,1246-1250(1995)
- 3) Yuichi Suwa, Ikumi Utsugi, Takao Yamagishi, Hisao Kuroda, Masanori Saito and Kazuyuki Inubushi. 2008, Anammox activity in agricultural soil ecosystem in Japan, The 12<sup>th</sup> international symposium on microbial ecology. Cairns, Australia, Aug. 17-22,2008
- 4) J.E.アンドリュース他、渡部正訳、地球環境化学入門、P109(2005)