

有明海奥部干潟域における脱窒菌群数の分布性と
脱窒活性に関する研究

Studies on habitat distribution of denitrifiers and denitrification
activity in the tidal flat of the interior parts of the Ariake Sea

鹿児島大学大学院連合農学研究科
生物環境保全科学専攻

古賀 あかね

2010年

目次

第1章 序論

- 1.1 研究背景と目的 1
- 1.2 本論文の構成 6

第2章 実験概要

- 2.1 アセチレン阻害法を用いた脱窒速度の算定 8
 - 2.1.1 アセチレン阻害法（コア・ヘッドスペース法） 9
 - 2.1.2 予備実験 10
 - 2.1.3 実験手順 13
 - 2.1.4 脱窒速度の算定式 15
- 2.2 MPN 法を用いた脱窒菌群の計数 17
 - 2.2.1 MPN 法 18
 - 2.2.2 実験手順 19
- 2.3 底質-直上水間における DIN フラックス速度の算定 22
 - 2.3.1 フラックス速度の算定式 22
 - 2.3.2 実験手順 23
- 2.4 ORP メータを用いた酸化還元電位の測定 25
- 2.5 含水比及び CHN コーダを用いた有機物量の測定 27
 - 2.5.1 含水比測定 27
 - 2.5.2 有機物量測定 28
- 2.6 オートアナライザーを用いた DIN の測定 30
 - 2.6.1 直上水の採取と水質分析 30
 - 2.6.2 間隙水の抽出と水質分析 31

第3章 奥部干潟域における脱窒菌群の広域的分布及び底質環境の季節変化

3.1	緒論	33
3.2	実験概要	36
3.3	結果及び考察	39
3.3.1	脱窒菌群の広域的分布について	39
3.3.2	脱窒菌群の生息環境について	43
3.3.3	脱窒速度の広域的な分布について	48
3.4	結論	51

第4章 有明海奥部干潟域・浅海域における脱窒菌群数の生息分布

4.1	緒論	53
4.2	実験概要	55
4.3	結果及び考察	57
4.3.1	脱窒菌群数の季節変化	57
4.3.2	底質環境の季節変化	58
4.3.3	底質環境の鉛直プロファイル	61
4.4	結論	66

第5章 有明海泥質干潟域における脱窒菌群と脱窒速度

5.1	緒論	68
5.2	実験概要	70
5.3	結果及び考察	72
5.3.1	脱窒菌群数及び底質環境の季節変化	72
5.3.2	底質中の有機物量及び底質間隙水中の無機態窒素濃度の季節変化	74
5.3.3	脱窒速度と脱窒菌群数の関係	80
5.3.4	脱窒速度と無機態窒素フラックス速度の関係	81
5.3.5	脱窒菌群と環境因子の鉛直分布	83
5.4	結論	94

第6章 脱窒速度と環境因子との関連性	
6.1 緒論	97
6.2 結果及び考察	99
6.2.1 他地域における脱窒速度の比較	99
6.2.2 脱窒活性に影響を及ぼす環境因子	101
6.3 結論	106
第7章 総括	107
謝辞	113
参考文献	115
オストワルド溶解度係数	130
MPN 表	132

第1章 序論

1.1 研究背景と目的

18 から 19 世紀にヨーロッパを中心とした産業革命・工業化により、様々な環境への悪影響が顕在化し始めた。その後、酸性雨、オゾンホール、異常気象、地球温暖化など全地球規模の環境の変化が顕著になってくるにつれ、人々の環境問題に対する関心が徐々に高まってきている。この環境問題の解決の本質は、自然生態系を守り、回復させると同時に持続的に利用していくこととされている¹⁾。

近年、ラムサール条約^{*1}（1971 年）や世界遺産条約^{*2}（1975 年）など生物及び生態系を含む環境の保護・保全に関する国際条約が制定され、地球規模の環境保全が論じられるようになった。環境先進国であるドイツでは、生物生息空間（ビオトープ：Biotope）^{*3} という概念を創り、ドイツ連邦自然保護法^{*4}において、ビオトープは保護のみならず、保全、発展、復元しなければならないとし、自然環境の復元に力を入れている¹⁾。我が国でも上記の条約の締結国として、環境基本法^{*5}（1993 年）の制定や京都議定書^{*6}（1997 年）による温室効果ガス削減目標の設定など、環境保全に対して積極的な姿勢を見せている。しかし、その成果については、決して良好とは言えないのが現状である。

最近では、水辺ビオトープの一つとして、沿岸域などにおいて、陸生植物から水生植物などの植物群落や動物群落が移行するエコトーン（推移帯）の重要性が指摘されている²⁾。ラムサール条約により、湿地（Wetland）を始めとする水域環境の保全への関心が集まっており、我が国でも釧路湿原を始めとする、種々の湿地が登録されている。しかし、環境浄化機能を有する干潟（Tidal flat）における登録は、千葉県谷津干潟（1993 年）、沖縄県漫湖（1999 年）、愛知県藤前干潟（2002 年）、沖縄県名蔵アンパル（2005 年）の 4 ヶ所であり³⁾、この漫湖と名蔵アンパルについては、マングローブ林であるため、干潟だけの登録地としては谷津干潟と藤前干潟の 2 ヶ所と極めて少ない。

干潟は、流入河川や沿岸流により河口や内湾沿岸部に砂泥が堆積し、潮汐の干満によって海面より干出したり海面下に冠水したりする特異な地形である。その底質の粒径は、砂に近いものから泥質まで様々で、地形的特徴からは、河口干潟、前浜干潟、潟湖干潟に分類される。また、干潟の生態系は、干潟を形成させている成因、干潟を構成している環境要素、環境要素の上に成り立つ機能などにより成立している (Table 1-1) ⁴⁾。

Table 1-1 干潟生態系の概念

成因	生物的成因 無機的環境成因
環境要素	生物（上位性，典型性，特殊性） 無機的環境（地形，水質，底質）
機能	生物生産機能 生物生息機能 環境浄化機能 その他の機能（親水，景観形成）

干潟生態系では、陸域生態系と比較して、流況、波浪、水質、底質などの無機的環境が生物の生息や再生産（繁殖）に強い影響を与えているのが特徴で、沿岸域の中でも特に生物の多様性と現存量が高く保たれている空間を持つ。生産者として植物プランクトンの他、底生微細藻類や海藻（草）類の生産力が大きく、消費者として貝類、甲殻類、多毛類、貧毛類、線虫類など多様な底生生物が生息する ⁵⁾。そのため、魚類の産卵や稚仔魚の採餌場、渡り鳥などの採餌場として、多様な高次消費者も多数生息する生態系を構成している。

我が国では、高度成長期における臨海部の大規模な開発により、背後地の開発と相俟って干潟・藻場を含む沿岸域の環境を大きく変貌させた。環境庁の報告 ⁶⁾ によれば、第二次世界大戦前から 1978 年までに約 38%、1978 年から 1992 年までに約 7%の干潟が消滅しており、その原因の約 40%は埋め立てによるものとされている。この干潟の消失は、干潟域生物の生息・産卵場所の喪失に止まらず、高潮時に来遊する稚魚への餌料供給をも絶つこ

とで漁獲量にも影響が及ぶことを意味する。また、環境浄化機能による有機物の除去を低下させ、赤潮や貧酸素水塊の発生が生じる可能性があるなど様々な弊害を起こすと考えられる。

有明海（北緯 32°27′～33°10′，東経 130°06′～130°36′）は、幅 18km，奥行き 96km，面積 1,700km²，平均水深 20m で、その環境特性においても、生物相においても、日本では他に例を見ないほどの個性的な閉鎖性海域である⁷⁾。また、その環境は、大きな潮位差と速い潮流、多量の浮泥、広大な干潟という 3 つの大きな特徴を持つ。この有明海が有する干潟は、現存する全国干潟面積の約 38%（19,200ha）を占める一方、1979 年以降の全国消滅干潟面積の約 56%（3,000ha）を占めており、急速な干潟の減少が起こっている。

これまで有明海は、「豊饒の海」と呼ばれ、漁獲量による海域の生物生産力は瀬戸内海と並んで最高水準を誇っていた⁸⁾。これは、赤潮発生条件を常に備えるほどの高い栄養塩濃度⁹⁾によるものであるが、それにも関わらず問題となるような赤潮が発生しないという特異な海域だった。しかし、近年、養殖ノリの大不作や二枚貝などの漁獲量の減少を始め、貧酸素水塊及び赤潮の発生など環境異変が生じている¹⁰⁾（Fig. 1-1）。

このような状況の中、干潟の持つ窒素及びリンの除去といった環境浄化機能が注目され、その中でも干潟における物質循環や海域からの物質の取り出しとも密接な関係にある脱窒作用を中心とした浄化能の定量的評価が重要視されている¹¹⁾。柳と阿部（2006）¹²⁾は、1999

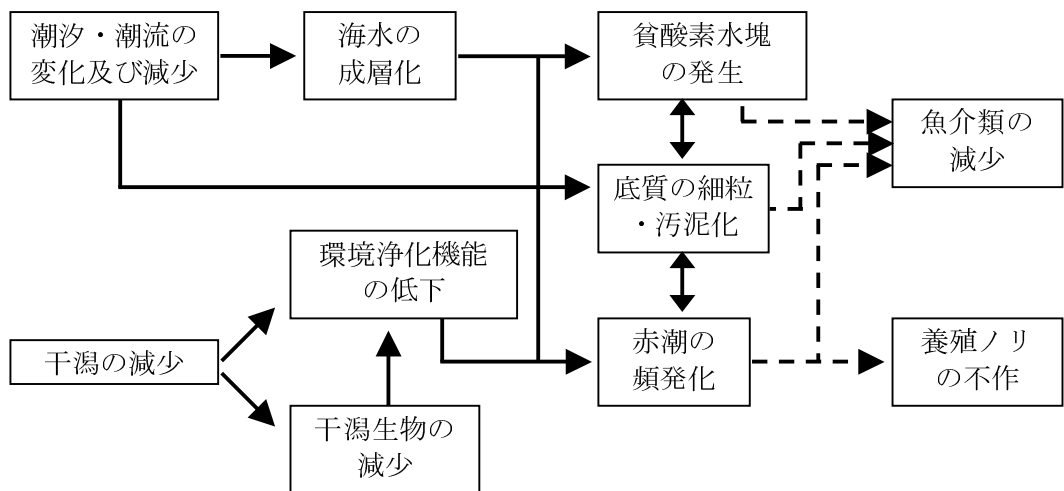


Fig. 1-1 有明海における環境異変とその主な要因

年の窒素収支の見積もりから、外海への流出を除いた海域からの窒素除去量の約 72%を脱窒作用が占めることを明らかにした。干潟域及び浅海域における栄養塩（特に硝酸塩）の蓄積は、海域の酸性化を引き起こすと推察されており¹³⁾、脱窒作用による硝酸塩の消失は、窒素の除去効果と相俟って干潟の環境浄化における影響が大きいことを示唆する。

現在、水質汚濁が著しい東京湾、伊勢湾、大阪湾などの内湾では、陸域から流入する汚濁負荷が水質環境悪化の基本的な原因となっており、負荷の削減が検討・実施されている¹⁴⁾。一方、有明海における水質環境の悪化は、汚濁負荷によるものではないとされており¹⁵⁾、環境異変の原因は未だ究明されていない。したがって、根本的な環境再生策については、全く見通しが得られていないのが現状である。これを受け、環境省に設置された有明海・八代海総合調査評価委員会及び佐賀大学で発足した有明海総合研究プロジェクトにおいて、有明海の環境に関する総合的な調査及び研究が始められた。

有明海の環境異変については、様々な要因が指摘されているが、その 1 つに、干潟の消失、特に諫早湾干拓事業による泥質干潟の喪失と、それに伴う環境浄化機能の低下が海域環境の変化を招いたとする指摘がある¹⁶⁾。しかしながら、有明海の泥質の干潟域に関する調査研究は依然少なく、既存の干潟の調査研究を見ても砂質干潟を対象としたものが中心で^{17)~19)}、有明海奥部に広大に広がる泥質干潟の物質循環や環境浄化機能については、未だ十分に解明されていない。そこで、本研究では、泥質干潟域底質内の窒素循環メカニズム (**Fig. 1-2**) の解明を前提に、素過程の 1 つである脱窒作用に着目し、有明海奥部干潟域における脱窒菌群の広域的な分布状況や泥質干潟における脱窒菌群数と脱窒速度の季節推移及び脱窒活性と底質の主な環境要因との関連性を明らかにすることを目的とした。

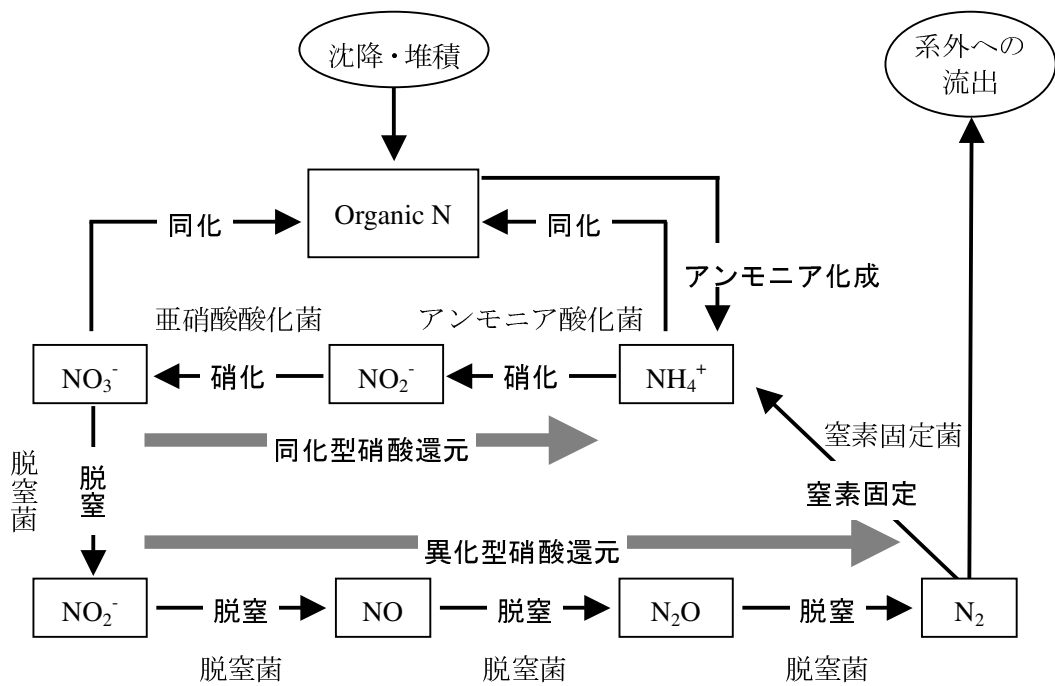


Fig. 1-2 干潟域底質における窒素循環の概念図

1.2 本論文の構成

本論文における各章の構成と内容は以下の通りである。

第1章 序論

本章では、この研究の背景および目的についてまとめる。

第2章 実験概要

本章では、脱窒速度、脱窒菌群数、直上水-底質間の無機態窒素フラックス速度に関する実験の概要と底質及び水質の分析法について述べる。

第3章 奥部干潟域における脱窒菌群数の広域的分布及び底質環境の季節変化

本章では、有明海奥部干潟域において、広域的な脱窒菌群数の分布及び脱窒作用に関与する底質環境の季節変化について述べる。

第4章 干潟域及び浅海域における脱窒菌群数の分布及び底質環境の季節変化

本章では、干潟～浅海域の干出・冠水時における脱窒菌群数と底質環境の季節変化について述べる。

第5章 泥質干潟域における脱窒菌群数の分布と脱窒速度

本章では、有明海奥部泥質干潟における脱窒菌群数及び底質環境などの季節変化とそれらが及ぼす脱窒活性への影響について述べる。

第6章 脱窒速度と環境因子との関連性

本章では、干潟域における底質特性の差異が及ぼす脱窒活性への影響、及び脱窒活性へ影響を及ぼす環境因子の季節変化について述べる。

第7章 総括

本章では、この研究における総括及び今後の課題について述べる。

- *1 「特に水鳥の生息地として国際的に重要な湿地に関する条約」。イランのラムサールで採択され、湿地を生態系に必要とする動植物、特に国境を越えて渡る水鳥の保護を念頭に湿地生態系を保全すること、またそれを賢明に利用することを目的とする。
- *2 「世界の文化遺産及び自然遺産の保護に関する条約」。世界的に価値のある文化遺産と自然遺産（絶滅のおそれのある動植物の生育・生息地を含む）を世界遺産と認識し、それらを将来世代に残していくことを目的とする。
- *3 生物社会（一定の組み合わせの種によって構成される生物群集）の生息空間。または、周辺地域から明確に区分できる性質を持った生息環境の地理的最小単位と表現され、生態系とは異なる意味合いを持つ。
- *4 「自然保護及び景域保全に関する法律」。自然及び景域を保護の対象だけでなく、復元の対象としても捉え、自然と景観の多様さ、特色、美しさと観光価値が長く保証されることを目的とし、将来世代に対する責任が明記されている。
- *5 環境の保全について基本理念、環境の保全に関する施策の基本となる事項を定めることにより、環境保全に関する施策を総合的かつ計画的に推進し、現在及び将来の国民の健康で文化的な生活の確保に寄与するとともに人類の福祉に貢献することを目的とする。
- *6 「気候変動に関する国際連合枠組条約の京都議定書」。地球温暖化の原因となる温室効果ガスについて、先進国における削減率を1990年基準として国別に定め、共同で約束期間内に目標値を達成することが定められた。

第2章 実験概要

2.1 アセチレン阻害法を用いた脱窒速度の算定

脱窒作用は、堆積物や水中に分布する脱窒菌群によって硝酸塩 (NO_3^-) あるいは亜硝酸塩 (NO_2^-) が還元されて、亜酸化窒素 (N_2O) を経由して窒素ガス (N_2) になる代謝系である。よって、堆積物あるいは底層水をとって閉鎖系に入れ、一定時間後の N_2 の増加を測定することで、原理的には活性が測定できる。しかし、堆積物間隙水や底層水には N_2 が約 $500\mu\text{mol}$ も溶けている¹⁾ため、微弱な活性を N_2 の濃度差で算出するには多くの困難が伴う。

Table 2-1 に、主な脱窒速度 (R_d) の測定方法とその検出感度をまとめた¹⁾。この中で、アセチレン (C_2H_2) の存在が、脱窒作用における N_2O から N_2 への還元を阻害することを利用し、 N_2O の蓄積を測定するアセチレン阻害法は、簡便でありかつ感度も高いため、土壌

Table 2-1 堆積物での脱窒速度の実験的な測定法

実験方法	検出感度 (mg-N/l)
硝酸イオンの減少 (比色法)	100
^{15}N トレーサー法	
(1) 発光分析法	約 400
(2) 自然安定同位体用質量分析計	約 10
アセチレン阻害法	
(1) ヘッドスペース法 (ECD ガスクロ)	1~2
(2) コールドトラップ法 (ECD ガスクロ)	約 0.5
^{13}N 放射性同位体法	—
直上水中の窒素ガス濃度 (ガスクロ分析)	約 2000
メンブレンインレット質量分析計 (QMS) (N/Ar 比)	約 100

や海域における堆積物での標準的な手法となっている²⁾。

アセチレンは、加圧下でアセトン中に溶解している無色ガスで、水への溶解度は1.66g/100mlである。また、脱窒だけでなく他の様々な微生物代謝にも影響を及ぼすため、アセチレン阻害法には土壌の窒素固定能が同時に測定できる利点がある。さらに、アセチレンは硝化を阻害するため、好氣的条件下でも土壌中に窒素酸化物が補給されることもない。しかし、Knowles (1990)³⁾は、これまで明らかになったこの方法の問題点を以下のよう

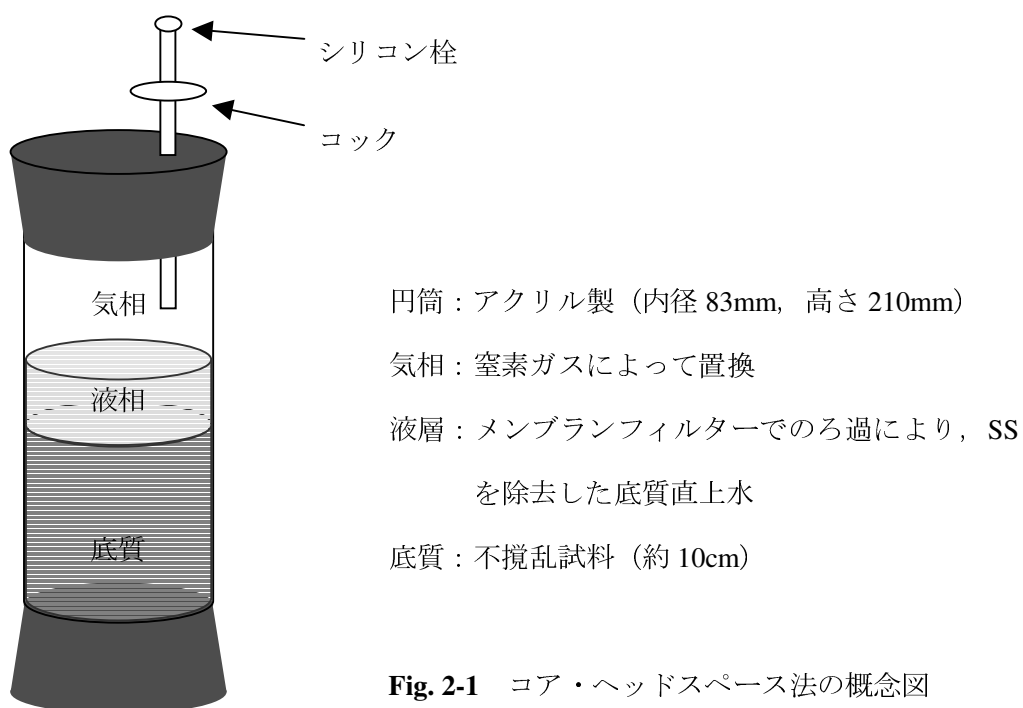
- 1) 低濃度の硝酸イオン (1~10 μ mol) では、アセチレンの阻害効果が低下する。特に沿岸の酸化還元電位が低い堆積物ではこの減少が多い。
- 2) アセチレンの添加により硝化が阻害されるため、堆積物中で硝化と脱窒が連結して低い硝酸イオン濃度になっている場合は、硝化作用が完全に止まる濃度のアセチレンを添加しなければならない。
- 3) 培養中のアセチレンの代謝が、嫌氣的な堆積物では比較的速やかに起こるため、培養時間をなるべく短時間にする。
- 4) 堆積物中における硫化水素の存在は、 N_2O の還元が完全に阻害されるアセチレン濃度 (約 1mmol) で、 N_2O の部分的な還元を引き起こす。

2.1.1 アセチレン阻害法 (コア・ヘッドスペース法)

本実験では、アセチレン阻害法を用いて脱窒速度を測定することとした。発生ガスの分析には、通常、パーミアンドトラップ法とヘッドスペース法が用いられるが、低沸点の揮発性成分である N_2O (-88.48 $^{\circ}$ C) では、ヘッドスペース法が有効である。このヘッドスペース法は、試料を密閉容器に入れて培養し、気液相間の平衡後に上部空間 (ヘッドスペース) の気体をガスクロマトグラフで検出する方法で、さらにスラリー法とコア法に分けられる。スラリー法は、底質とアセチレン溶存水を十分に混合し懸濁させるため、アセチレンによる阻害効果が大きいですが、実際の値よりも過大評価される^{4)~6)}。また、常にコア法よりも安

定した測定値を与えるが、懸濁液中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度によって測定値が左右される問題がある。一方、コア法は、底質を不攪乱状態のまま測定するため、アセチレンによる阻害が充分に行われず、実際の値よりも過小評価される。また、特に間隙水の移動による基質の供給が長時間培養によって妨げられるので、できるだけ短い時間で測定を行うべきであり、短時間の培養であればコア法の方がスラリー法よりも安定した測定値を与えるとされている⁷⁾。これらのことから、現場の脱窒活性を評価するには、コア法を用いた短時間の測定が優れていると考えられる。

本実験では、実際の干潟における脱窒速度の評価を目的とするため、より現地に近い環境条件で実験を行うことが重要である。したがって、コア法を用いて実験を行った。なお、コア・ヘッドスペース法では、**Fig. 2-1** のような状態で実験を行った。



2.1.2 予備実験

コア・ヘッドスペース法を用いるにあたり、他の実験との兼ね合いにより、底質の高さ

を約 10cm と設定したが、液層については未設定である。そこで、底質直上水量と脱窒速度との関係について検討した。その結果、脱窒速度は底質直上水量が 100ml のときに最大値を示し、100ml を超えると脱窒速度は極端に低下した (Fig. 2-2 参照)。よって、底質直上水量を 100ml と設定した。

通常、脱窒ポテンシャルの測定には、底質直上水に脱窒の電子受容体となる硝酸が添加される^{8), 9)}が、実際の脱窒速度を評価するには、硝酸の添加を最小限もしくは無添加にする場合が多い^{10), 11)}。そこで、底質直上水にアセチレンを添加した現地のろ過直上水を用い、温度変化 (5, 10, 15, 20, 25, 30, 40°C) に伴う硝酸添加量と脱窒速度との関係を検討し

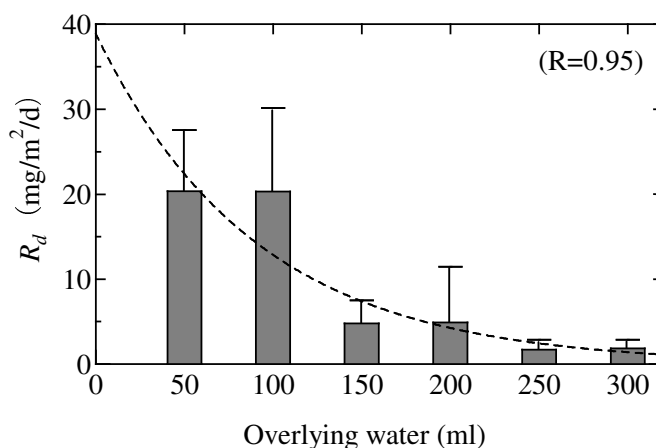


Fig. 2-2 底質直上水量と脱窒速度との関係 (硝酸 30ppm 添加, 培養温度 30°C)

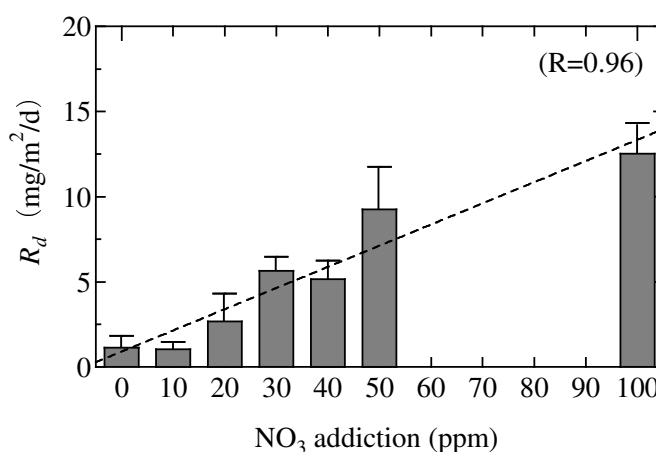


Fig. 2-3 硝酸添加量と脱窒速度との関係 (表面水量 100ml, 培養温度 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40°Cの平均値)

た (Fig. 2-3 参照). その結果, 硝酸添加量が増大するに伴い脱窒速度が上昇した. また, 硝酸を添加しない場合においても, 低温下 (5°C) での脱窒速度を検知することができた. これより, 年間を通して, 脱窒速度の測定が可能であると推察された. しがって, より実際の環境に近づけるために, 底質直上水は, 硝酸を添加しない現地のろ過直上水を用いることにした.

一般に, 有機物の多い沿岸域の底質の場合, 脱窒活性は底質表層 5cm 以内にほとんどあるため, アセチレンの添加は底質表層 10cm 以内でよいとされている¹⁾. また, その添加量は 5~10%とされている. しかし, 底質中の硝酸が低濃度の場合, アセチレン阻害効果の低下が見られることがあり, この現象は, 沿岸域の Eh が低い底質において多く見られる³⁾ことから, 完全に阻害できる濃度を添加する必要がある. そこで, アセチレン添加量と脱窒速度の関係を検討した (Fig. 2-4 参照). その結果, 脱窒速度はアセチレン添加量の増減に関わらず, ほとんど変化が見られなかった. よって, アセチレン添加量は, 底質直上水に対して 10%の濃度になるように添加した.

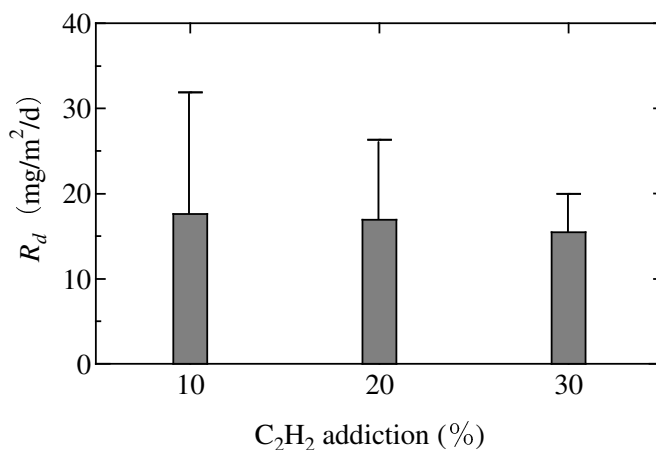


Fig. 2-4 アセチレン添加量と脱窒速度との関係 (表面水量 100ml, 培養温度 30°C)

これらの結果より, Table 2-2 のようにアセチレン阻害法の実験条件を決定した. 以後, 本研究ではこの実験条件に準じて測定を行った.

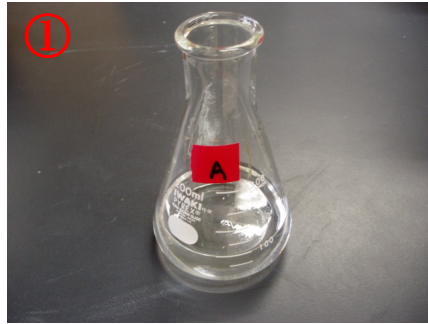
Table 2-2 アセチレン阻害法における実験条件

項目	条件
底質直上水量 (ml)	100
硝酸添加量 (ppm)	無添加
アセチレン添加量 (%)	10
添加深さ (cm)	10
添加数 (箇所)	50

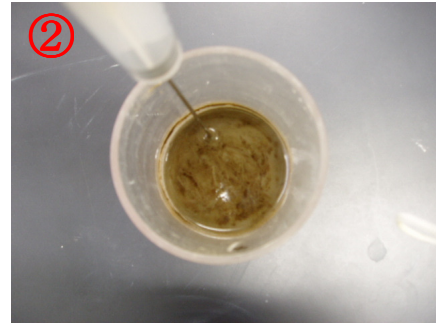
2.1.3 実験手順

以下に実験手順を示す (Fig. 2-5 参照). また, Table 2-3 に, N₂O 発生量測定の際に用いたガスクロマトグラフの設定をまとめた.

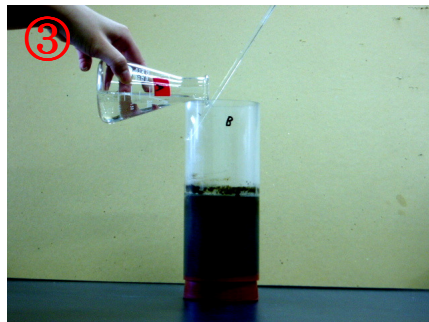
- 1) 現場にて, のアクリル製コア (内径 83mm, 長さ 210mm) に底質を乱さないように深さ約 100mm 採取し, 下部にゴム栓をして速やかに研究室に持ち帰った. 同時に直上水を採取した.
- 2) 直上水 100ml 中にアセチレンを約 10%飽和させた (Fig. 2-5-①).
- 3) 底質中の硝化を止めるため, 2) の溶液から, 1ml ずつ試料底泥中に 50 ヶ所シリンジで注入し, 底質コア中に残りの溶液を添加した (Fig. 2-5-②, ③).
- 4) 上部に気体注入・吸引用および気体採取用の内径 5mm の PE 管が付いたゴム栓をした. なお, 気体採取用の PE 管の口には小型のシリコン栓 (ガスクロマトグラフの試料導入用のシリコン栓) を取り付けた (Fig. 2-5-④).
- 5) 気相中を窒素置換するため, ゴム栓の気体注入・吸引用の PE 管より底質コア中の気相部の空気を真空ポンプによって吸引し, 気相部を窒素で置換した (Fig. 2-5-⑤, ⑥).
- 6) 底質コアをインキュベータで一定時間培養し, 測定開始時から 2 時間経過後より, 任意の間隔で 24 時間後まで測定した (Fig. 2-5-⑦).



① ろ過した直上水100mlにアセチレン約10%を溶存させる



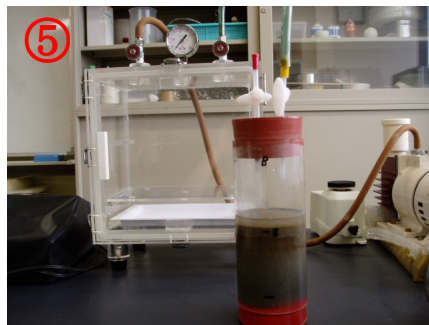
② ①の溶液を1mlずつ計50カ所に深さ10cmまで注入



③ 底質表面を乱さないように残りの溶液を注入



④ 上部にPE管付きゴム栓をする



⑤ 真空ポンプにより気相部を吸引



⑥ 窒素ガスにより気相部を置換



⑦ インキュベータを現地海水温度に設定して暗所培養



⑧ シリンジで気相2mlを吸引しガスクロマトグラフに注入する

Fig. 2-5 脱窒速度の実験手順

- 7) コア内の気相をマイクロシリンジで 2ml 吸引し, TCD 付きガスクロマトグラフ (G2700, Yanaco) 上部より注入して, N_2O の発生量の経時変化を測定した (Fig. 2-5-⑧).

Table 2-3 ガスクロマトグラフの設定

項目	設定
OVEN 温度	120°C
INJECTOR 温度	150°C
DETECTOR 温度	150°C
キャリアーガス	He ガス (純度 99.995%)
標準ガス	N_2O (3,240mg/l)
検出時間	4min

2.1.4 脱窒速度の算定式

今回の実験では, 硝酸を無添加にしたことにより脱窒速度の低下, また間隙水中の基質の供給が長時間の培養によって抑制されることから, 任意の測定時間における最大 N_2O 濃度 (Fig. 2-6 中 ΔC_1 及び ΔC_2) を用いて脱窒速度を算出した.

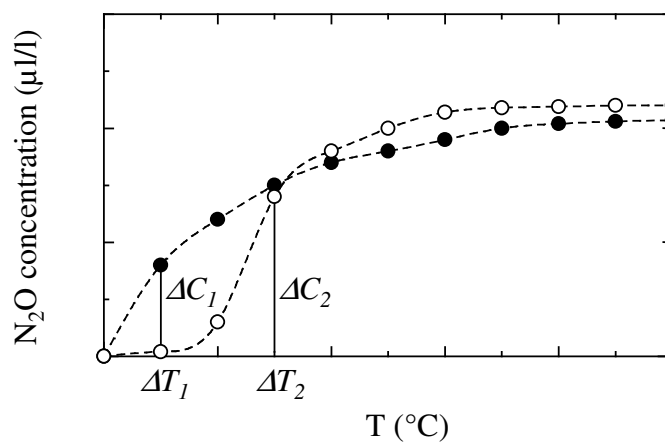


Fig. 2-6 脱窒速度算出における N_2O 濃度の決定

(2.1) 式に, 脱窒速度の算定式を示す.

$$R_d = \frac{1.25^* C (V_g + \beta V_l)}{AT} \quad (2.1)$$

ここで, R_d は脱窒速度 ($\text{mg-N/m}^2/\text{d}$), C は気相中の N_2O 濃度の測定値 (ml/l), V_g 及び V_l はそれぞれ円筒中の気相及び液相容積 (l), A は底質試料断面積 (m^2), T は培養時間 (d), β はオストワルド溶解度係数, 1.25^* は $\text{N}_2\text{O-N}$ の理想気体における質量 (mg-N/l) である.

ここで用いたオストワルド溶解度係数 (β) は, 岩橋ら (2000)¹²⁾ 及び駒田と竹内 (1999)¹³⁾ の値 ($0^\circ\text{C} : 1.297$, $10^\circ\text{C} : 0.910$, $20^\circ\text{C} : 0.675$, $30^\circ\text{C} : 0.530$) をプロットしたグラフの近似線からから近似式 (2.2) を求め (Fig. 2-7), 各培養温度における数値を算出して用いた (付表参照).

$$y = -8.232 \times 10^{-6} x^3 + 9.742 \times 10^{-3} x^2 - 4.742 \times 10^{-2} x + 1.297 \quad (2.2)$$

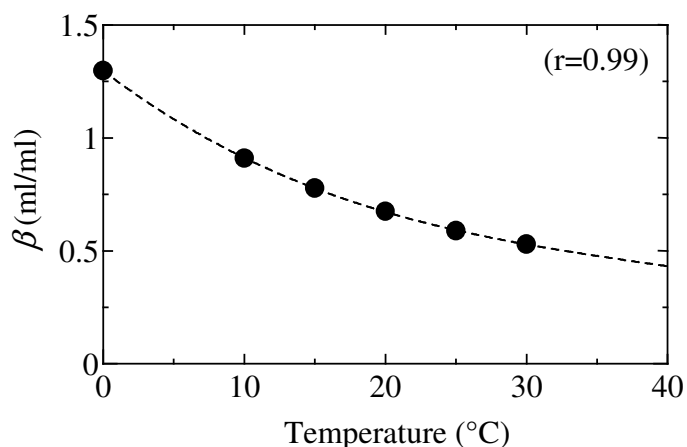


Fig. 2-7 オストワルド溶解度係数の近似式

2.2 MPN 法を用いた脱窒菌群数の計数

脱窒作用とは、水中や土壌において NO_3^- 、 NO_2^- などの窒素酸化物 (NO_x) が N_2O 、 N_2 などのガス態の窒素に還元される異化的硝酸還元反応のことで、生物圏から大気圏へ放出される窒素の主要な経路として地球上の窒素循環に大きな役割を果たしている。pH5 以下の特殊な条件下では、化学的な作用で脱窒が起こることもあるが、一般的に脱窒は脱窒菌と呼ばれる細菌群によって引き起こされる。脱窒菌群は多くの属にまたがり土壌中に広く分布しているが、一部の *Thiobacillus denitrificans* のような独立栄養性のものを除いて、そのほとんどは化学合成従属栄養細菌である。

脱窒菌群の大きな特徴は、 NO_x 以外にも酸素で呼吸することができ、しかも酸素呼吸を優先するため酸素の存在下では脱窒を行わない点である。したがって、脱窒菌群は NO_x の存在する場所で必ず脱窒を行うとは言えない。このような性質から、土壌中で脱窒が起こるためには温度や pH などの一般的な条件の他に、1) 電子受容体となる NO_x の存在、2) 電子供与体となる有機物の存在、3) 嫌気的環境の存在などの条件が揃わなければならない¹⁴⁾。しかし、不均一な土壌団粒内のような微小な環境下の還元状態や化合物の分布は、外部と大きく異なることがあるため、一見この 3 条件が満たされていないような条件下でも脱窒は起こり得る。

脱窒菌群は、異化代謝系で主として NAD^+ を使用して酸化する。従って呼吸鎖における水素供与体としては、異化代謝系で還元された NADH が利用される。

その計数法としては、寒天培地を用いた平板法による直接計数と液体培地を用いた MPN (Most Probable Number) 法による計数がある。脱窒菌群の計数では、主に MPN 法が用いられる。

2.2.1 MPN 法

MPN 法は、最確値法あるいは希釈頻度法とも呼ばれ、河川水、湖水や底質などの試料中に存在する微生物の計数法である。

試料を 10 倍で順次希釈し、各希釈液の一定量をそれぞれ培地の入った数本から数十本の試験管に接種・培養し、対象とする微生物の生育が認められた試験管の本数から、MPN 表から元の試料中の微生物数を統計処理によって計数する方法である。統計処理を行うための前提として、MPN 法は次の 2 条件が成立することを仮定している¹⁵⁾。

1. 土壌希釈液中で個々の細胞はばらばらに分散している。
2. 試験管に 1 細胞でも接種されたならば、増殖によって必ず生育が認められる。

MPN 法は、多くの労力と実験器具を必要とする割には精度が低い。5 連法を利用する場合、1 検体につき少なくとも 15 本の試験管が必要なため、多くの試料を同時に測定することは困難である。また、得られる推計値は、95%、信頼区間でも約 3 倍から約 1/3 倍もの幅が許容される¹⁶⁾。しかし、通常の平板培養法では検出できない、特異な代謝能によって生育する微生物（セルロース分解菌、脱窒菌、根粒菌、硫酸還元菌など）の計数には有効である。なお、MPN 法による計数値と平板法によるコロニー計数値では、MPN 法の計数値の方が若干高めの値になる傾向がある¹⁶⁾。

MPN 法で菌数を算定するためには、最低 3 段階の希釈が必要であるが、通常は 5 段階で実験を行い、その中から生育の認められる希釈を含む 3 段階を用いて行う。また、今回の実験においては、10 倍希釈による 5 連×5~7 段階で実験を行った。実験に用いた Giltay 培地を Table 2-4 に示す。

Table 2-4 Giltay 培地 (11 当たり)

薬品名	
KNO ₃	1.0g
アスパラギン	1.0g
クエン酸ナトリウム	8.5g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.0g
FeCl ₂ ·6H ₂ O	0.05g
KH ₂ PO ₄	1.0g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2g
BTB 溶液 (1w/v%)	5.0ml
pH	7.0~7.2

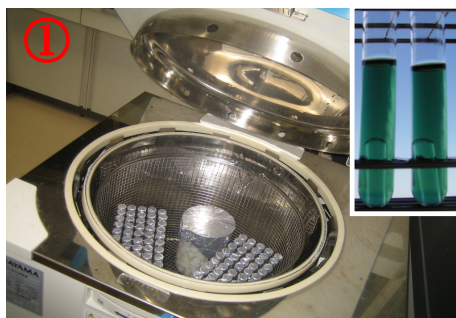
2.2.2 実験手順

以下に、MPN 法を用いた脱窒菌群算定の実験手順を示す (Fig. 2-8 参照)。

- 1) 試験管 375 本に事前に作成した液体培地 (Giltay 培地) 9ml を入れ、口を下に向けたダーラム管を挿入する。アルミ箔で蓋をしてオートクレーブ (HV-85, HIRAYAMA) で高温蒸気加熱滅菌 (121°C, 15min) をする (Fig. 2-8-①)。
- 2) オートクレーブ滅菌しておいた 300ml フラスコに、底質試料 10g を入れ、滅菌しておいた純水 100ml を加えて攪拌、希釈し懸濁液を作る (Fig. 2-8-②)。
- 3) 滅菌した純水を培養チューブに 9ml ずつ入れ、懸濁液 1ml を 10 倍希釈法によって、10 倍に各段階に希釈する (Fig. 2-8-③)。
- 4) 底質試料の希釈懸濁液 1ml を希釈段階ごとに、1) 後冷めた試験管 5 本ずつに接種する (Fig. 2-8-④)。
- 5) ダーラム管に気泡が入っていないことを確認してから、試験管の口をガスバーナー

で炙りゴム栓をして密封する (Fig. 2-8-⑤).

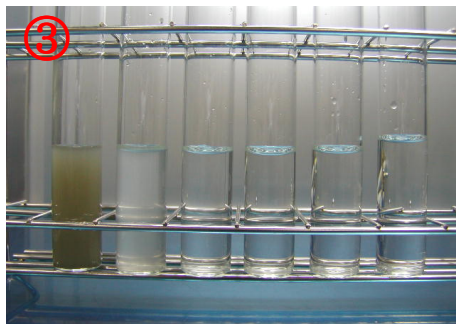
- 6) インキュベータに入れ, 30℃で7日間培養し (Fig. 2-8-⑥), 陽性となった試験管の本数により MPN 表 (附表参照) より菌数を算出する. 陽性管は, 培養前の培地 (pH7.0~7.2) はブロムチモールブルーによって緑色であるが, 培養後濃青色に変化 (NO_3^- 消失によるアルカリ性化) かつ, ダーラム管内の気泡の発生 (脱窒による窒素ガスの発生) により判断する (Fig. 2-9 参照).



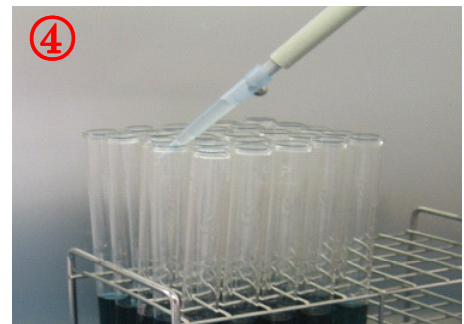
① ダーラム管入り Giltay 培地及びシリコン栓を高圧蒸気滅菌する



② 底質試料と滅菌した純水 100ml を混合し懸濁液を作る



③ 懸濁液を 10 倍に 5~7 段階希釈し希釈懸濁液を作る



④ 各希釈懸濁液を培地に 5 本ずつ接種する



⑤ 試験管の口とシリコン栓を火炎滅菌して栓をする



⑥ インキュベータを 30℃に設定し 7 日間培養する

Fig. 2-8 MPN 法の実験方法

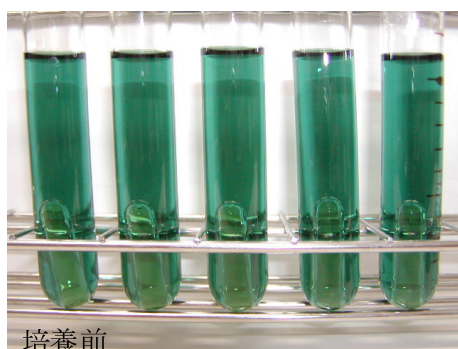


Fig. 2-9 陽性管の判定方法

濃青色に変化
気泡の発生

2.3 底質-直上水間における無機態窒素フラックス速度の算定

浅海域では、堆積物からの窒素やリンなどの栄養塩の溶出が、水圏の富栄養化を進行させる重要な要因であることが指摘されている¹⁷⁾。陸域由来や植物プランクトンなどの海域由来のデトリタスは、海水-堆積物の境界層（海底境界層）において高濃度に蓄積・濃縮され、その90%以上がベントス群集や微生物群集によって分解・無機化されている¹⁸⁾。そして、その過程で生成された窒素やリンなどの栄養塩などの一部は、間隙水を通じて底層水に溶出し、さらに拡散や移流により有光層まで運ばれ、再び植物プランクトンによる光合成に利用され、浮遊生態系における物質循環に回帰している。特に窒素については、沈降・堆積した有機態窒素化合物の約80%は無機態窒素として有光層に回帰しており、水圏における一次生産に必要な窒素の約25%は堆積物からの溶出によりまかなわれていると推定されている¹⁸⁾。

海底境界層における有機物並びに無機物の動態は、沿岸生態系全体における物質循環に対して大きな影響を与えている。しかし、浅海干潟域における有機態窒素（DON）の沈降・蓄積、無機態窒素（DIN）の溶出・取り込みといった物質循環については、未だ不明な点も多い。また、有機物の分解や無機化にかかわっている生物種と活性や、物理的、化学的、生物的要因が栄養塩の代謝・溶出過程に与える影響について、概念的理解も不十分である。そこで本研究では、底質-直上水間におけるDINフラックスが、干潟底質内のDINの循環に与える影響を検討するため実験を行った。

2.3.1 フラックス速度の算定式

底質からの溶存物質のフラックス速度の測定には、1) 間隙水中の溶存物質の濃度勾配から拡散方程式によって算出する方法^{19), 20)}、2) 底質を直上水とともに一定時間放置して、その間における直上水の溶存物質の濃度変化から算出する方法^{21), 22)}、3) 現場海域に沈め

たチャンバー内の溶存物質の濃度変化から算出する方法²³⁾ などがある。

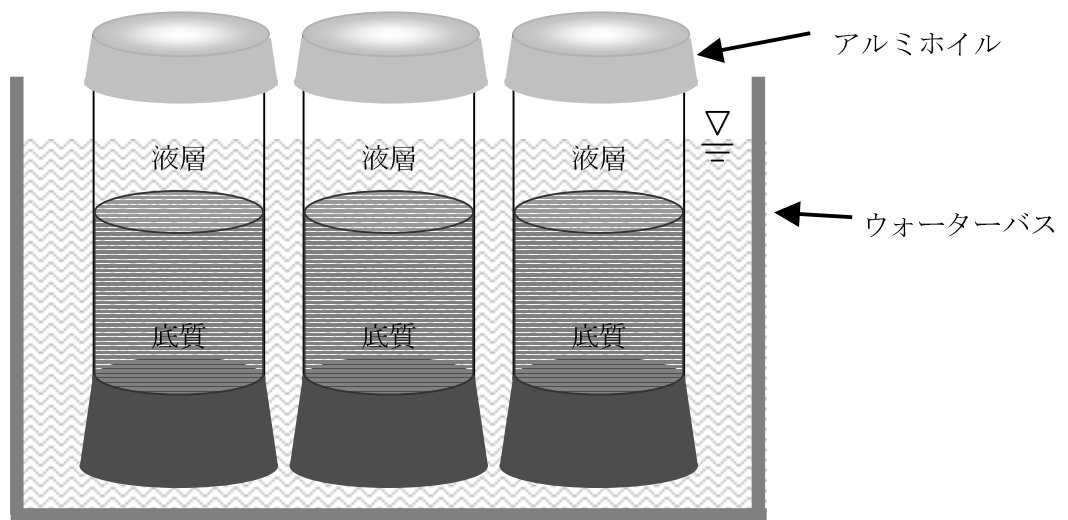
今回の実験では、室内でのコア法を用いて、一定時間培養した直上水中の濃度変化から直接的に DIN フラックス速度を求めた。底質－直上水間におけるフラックス速度は、信澤ら (2005)²¹⁾ 及び Welsh et al. (2000)²²⁾ の方法に準じ、(2.3) 式を用いて算出した。

$$F = \frac{(C_t - C_0) \cdot V}{T \cdot A} \quad (2.3)$$

ここで、 F はフラックス速度 (mg-N/m²/d)、 C_0 は開始時の DIN 濃度 (mg-N/l)、 C_t は時間 t 後の直上水の DIN 濃度 (mg-N/l)、 T は培養時間 (d)、 V は液相容積 (l)、 A は底質表面積 (m²) である。

2.3.2 実験手順

- 1) 底質直上水をろ過し、SS を除去する。
- 2) 円筒の底質の高さを 10cm とし、底質表面を乱さないように直上水 400ml を静かに流し入れて (サイフォンの原理) 冠水させる。
- 3) 円筒上部をアルミホイルで覆い、恒温槽の温度を直上水温と同温にし、恒温槽で培養する (Fig. 2-10 参照)。
- 4) 採水する前に、直入水の濃度を一定にするため、直上水をガラス棒で底質を乱さないようにゆっくり 1 分程度攪拌する。
- 5) 0, 4, 6, 8 時間後に直上水を採水する (0 時間後の採水は 15 分ほど恒温室に入れてから行う)。
- 6) メンブランフィルター (0.45μm) を取り付けしたシリンジを用い、直上水をろ過し、容器に入れ冷凍保存しておく。なお、フィルター、シリンジ及び保存容器は共洗いを十分に行う。
- 7) 後日、冷凍した試料を暗室で自然解凍し、オートアナライザーにより、直上水の DIN (NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N) の分析を行う。



円筒：アクリル製（内径 83mm，高さ 210mm）

底質：不攪乱試料（約 10cm）

液層：メンブランフィルターでろ過して，SS を除去した底質直上水（400ml）

Fig. 2-10 フラックス速度実験の概観

2.4 ORP メータを用いた酸化還元電位 (Eh) の測定

底質表層における酸素の分布は、底生生物群集の分布や代謝活性に大きな影響を与えている。Fig. 2-11 に、底質上層から下層に向けて、酸素濃度の変化に対応する底生生物に関連した各要因の鉛直プロファイルを示す²⁴⁾。これより、底質表層では、酸素濃度の変化に対応して窒素化合物の代謝経路が変化していることが分かる。

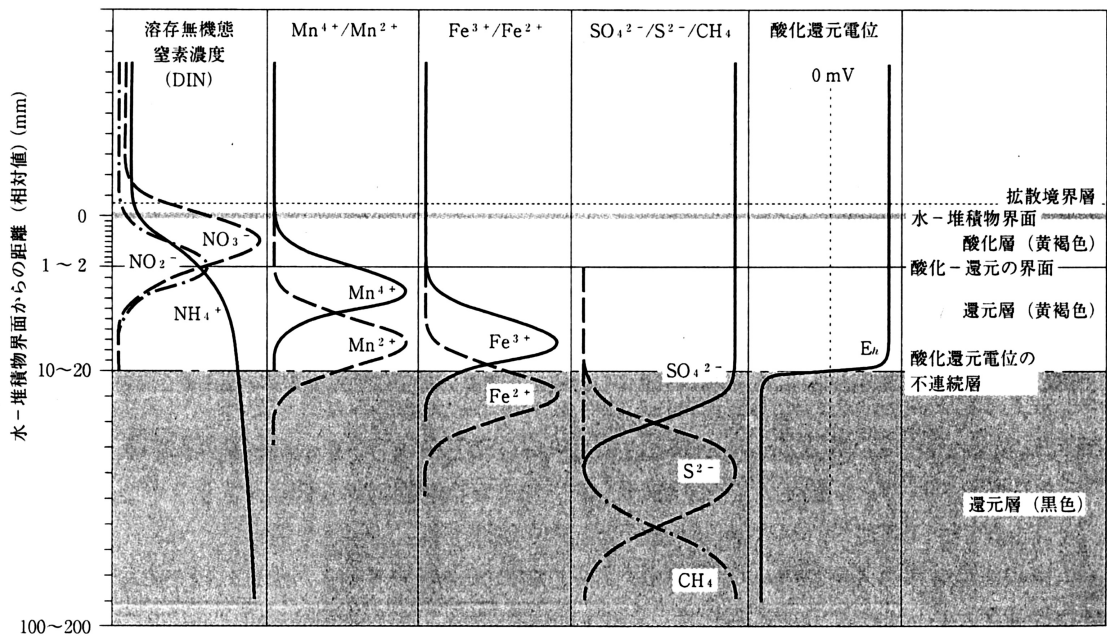


Fig. 2-11 水-堆積物境界面付近における底生生物に関連した各要因の鉛直プロファイル²⁴⁾

底生生物群集は底質を攪拌し、直上水からの酸素の供給を増加させることによって、底質の表層部位の Eh を高め、酸化層の厚さを増加させる。しかし、実際には底生生物群集は底質を上下に攪拌し、直上水と底質間における物質の移動を促進するので、底質中の物質や Eh, pH の上下差をより均一化することが考えられている。

ところで、生物は、種々の酸化還元電位によってエネルギーを得ている。ある酸化還元電位系の酸化還元の状態は、Eh (酸化還元電位) により示すことができ、ネルンストの式

により (2.4) 式で与えられる。利用できる酸化剤の量が限られている底質のような環境では、細菌の増殖に伴って還元化が進み酸化還元電位が低下する。底質の表層より深部にかけて、深さに応じた Eh の特徴的なパターンが見られ、その変化は 500mV 以上にも達する。また、Eh の低下に対応した細菌群の遷移が予想され、好気性菌及び嫌気性菌の代謝能は、それぞれ+400~-200mV 及び+100~-400mV の範囲で作用するといわれている²⁵⁾。

$$Eh = E'_0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{[X_{OX}]}{[X_{RED}]} \quad (2.4)$$

ここで、 E'_0 は酸化体と還元体の活量が等しい場合の標準酸化還元電位、 R は気体定数、 T は絶対温度 (K)、 F はファラデー定数、 n は 1 分子当たりやり取りされる電子の数、 X_{OX} 及び X_{RED} はそれぞれ酸化体と還元体の活量である。

本実験では、底質中における酸素濃度の分布の目安として Eh を用いた。Eh の測定には、ORP メータ (RM-10P, TOA electronics) (Fig. 2-12 参照) を用いた。また、測定した酸化還元電位の補正には、(2.5) 式を用いた。

$$Eh = E_{ORP} + 206 - 0.7 \times (T - 25) \quad (2.5)$$

ここで、 E_{ORP} は酸化還元電位の測定値 (mV)、 T は泥温 (°C) である。



Fig. 2-12 ORP メータ (RM-10P, TOA electronics)

2.5 含水比及び CHN コーダを用いた有機物量の測定

2.5.1 含水比の測定

土の含水比とは、110℃の恒温乾燥で一定量になるまで炉乾燥したときに失われる土水中の質量の、土の炉乾燥質量に対する比を百分率で表したもので、(2.6)式で求められる²⁶⁾。

$$w(\%) = \frac{m_a - m_b}{m_b - m_c} \times 100 \quad (2.6)$$

ここで、 m_a は試料と容器の質量 (g)、 m_b は炉乾燥試料と容器の質量 (g)、 m_c は容器の質量 (g) である。

また、含水比の試験方法を以下に示す。

- 1) 適量* (Table 2-6 参照) の底質試料を準備し、容器の質量 m_c (g) 秤量後、底質試料を容器に入れ、その質量 m_a (g) を秤量する。
- 2) 底質試料を容器ごと恒温乾燥炉に入れ、110℃で一定量になるまで (約 24 時間) 炉乾燥する。
- 3) 炉乾燥試料を容器ごとデシケーターに移しほぼ室温になるまで冷まし、炉乾燥試料と容器の質量 m_b (g) を秤量後、(2.7) 式より含水比を算定する。

Table 2-6 含水比測定に必要な最小質量の目安

試料の最大粒径 (mm)	試料質量 (g)
75	2000
37.5	1000
19	150~300
4.75	30~100
2	10~30

2.5.2 有機物量の測定

脱窒菌群は、電子供与体として有機物を必要とする。よって、有機物の季節変化とその分解状態を把握するため、底質試料の有機態炭素 (Org.-C) 及び有機態窒素 (Org.-N) の分析を、CHN コーダ (JM-10, J-Science LAB) (Fig. 2-13 参照) を用いて行った。



Fig. 2-13 CHN コーダ (JM-10, J-Science LAB)

また、炭酸カルシウムは 825°C で分解して CO₂ を発生するため、内湾などの底質試料の場合は、試料をあらかじめ希塩酸 (HCl) またはリン酸 (H₂PO₄) 処理をして、無機性の炭酸塩を除去しておく必要がある。そのため、貝などが含まれる場合は HCl 処理を行った。

また、有機物量測定の実験方法を以下に示す。

- 1) 底質を乾燥 (100~110°C 設定) させた試料約 1g を磁製乳鉢、次にメノウ製乳鉢でよくすりつぶした。
- 2) 1) に塩酸 (1+11) 5ml を加え、超音波発生装置などを利用してよく混合し、フィルムシートで蓋をして一晩放置する。無機態のものが飛散し、完全に有機態のみが残るまで、繰り返す。(泡が出なくなるのを目安とした。)
- 3) 放置後、二酸化炭素が発生しないことを確かめた後、遠心分離 (2,500rpm, 10min) を行い、上澄み水を捨てる。3ml の水を加え、振り混ぜて、遠心分離 (2, 500rpm,

10min) を行い, 上澄み水を捨てる. この作業を 2~3 回行い, 塩酸を除去する.

- 4) 沈殿している底質を 100~110°C で乾燥した後, 秤量し, 塩酸処理による重量の減少量を求める. その後, 乾燥した試料をよく混合し, 測定に供した.

2.6 オートアナライザーを用いた無機態窒素濃度の測定

脱窒は基質となる NO_3^- 及び NO_2^- の存在があって初めて起こる作用であるということは前述しているが、干潟などの底質環境において NO_3^- 及び NO_2^- 濃度が低い還元層などでは窒素還元反応を阻害する硫酸還元菌、メタン生成の働きが強くなり、脱窒の活性が弱まることが報告されている。そのため本研究では、底質直上水・底泥間隙水中の DIN 濃度の季節変化を把握するため、オートアナライザー (SWAAT, BLTEC) (Fig. 2-14 参照) を用いて、直上水及び間隙水中の DIN 濃度 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$) を測定した。なお、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 及び $\text{NO}_2^-\text{-N}$ はナフチルエチレンジアミン吸光度法を、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ はインドフェノールブルー吸光度法を用いて分析した。



Fig. 2-14 オートアナライザ (SWAAT, BLTEC)

2.6.1 底質直上水の採取及び水質分析

- 1) 採取した底質直上水をフィルターでろ過し、SS を除く。
- 2) 1) の処理による直上水をさらにメンブレンフィルター ($0.45\mu\text{m}$) を取り付けたシリ

ンジを用いてろ過し，容器に入れ冷凍保存しておく．なお，フィルター，注射器及び保存容器は共洗いを十分に行う．

- 3) 後日，冷凍した試料を暗室で自然解凍し，オートアナライザー（SWAAT, BLTEC）により，間隙水の DIN 濃度（ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ， $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ， $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ）の分析を行う．

2.6.2 間隙水の抽出及び水質分析

間隙水の抽出方法としては，遠心分離法，加圧ろ過法，透析膜法，吸引法の 4 つに大別される²⁵⁾．透析膜法，吸引法は，現場で直接採取できるため目的成分が変質する可能性が低い．しかし，本研究では調査時間が限定されているため，試料採取後，速やかに遠心分離法にて間隙水の抽出を行った．

また，間隙水の水質分析における実験手順を以下に示す．

- 1) 不攪乱状態で採泥した底質を表面から深さ 10cm まで 2cm 間隔にスライスカットして 0～2cm，2～4cm，4～6cm，6～8cm，8～10cm に分取し容器に入れる．
- 2) 清潔な薬さじなどを用い試料を容器内でよく混合する．混合が不十分であると，結果に大きな影響を与えるので十分注意する．大きな異物（生物体や貝殻など）はこの時点で取り除き測定には用いない．
- 3) よく混合した試料を遠心沈殿管に詰め，遠心分離機（5100, KUBOTA）（**Fig. 2-15** 参照）にかける．遠心分離の条件は 4000rpm，15min とする．
- 4) 3) の処理によって抽出した間隙水を，さらにメンブランフィルター（0.45 μm ）を取り付けたシリンジを用い，間隙水をろ過し，容器に入れ冷凍保存しておく．なお，フィルター，シリンジ及び保存容器は共洗いを十分に行う．
- 5) 後日，冷凍した試料を暗室で自然解凍し，オートアナライザー（SWAAT, BLTEC）により，間隙水の DIN 濃度（ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ， $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ， $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ）の分析を行う．



Fig. 2-15 遠心分離機 (5100, KUBOTA)

第3章 奥部干潟域における脱窒菌群の広域的分布及び底質環境の季節変化

3.1 緒論

有明海は広大な干潟を有し、湾最奥部には泥質、湾奥西岸域及び筑後川河口域には砂泥質、湾奥東岸域には砂質の干潟が形成されている。このような底質における粒径の違いは、そこに生息する底生生物の分布にも大きな影響を及ぼす¹⁾。

有明海では、潮汐の干満に伴って大量のデトリタスが浮泥の形態で沈殿と再懸濁を繰り返す。有明海奥部の主要河川の河口周辺での調査では、水中の全窒素の20~70%、全リンの80~90%が浮泥に吸着されている²⁾。この浮泥は、浮遊及び堆積の間に様々な動物プランクトンや底生生物の餌となり、潮流によって沈殿と再懸濁を繰り返す。したがって、結果的には浮泥は栄養物質の貯蔵庫として機能し、生物に安定して餌を供給することにより、干潟の高い生産力を支える^{3), 4)}。また、潮汐の干満に応じて干潟底質が干出と水没を繰り返し、河川を通じた栄養塩や有機物の流入と溶存酸素の豊富な沖合からの底層水の交換が行われ、底質の酸化・還元環境に周期的変化が生ずる。このため、窒素循環における硝化及び脱窒が効率的に機能し、干潟に流入する栄養塩や有機物が吸収・分解より除去される⁵⁾。このように、陸域からの栄養塩の流入や内部生産による負荷量の増大が懸念される近年、干潟の浄化能力は非常に重要である。

現在の有明海干潟面積は約200km²で、全国干潟面積の約38%を占める。しかし、1979年以降、約30km²の干潟が有明海から消滅しており、その面積は全国の消滅干潟面積の約56%を占め、その後も干潟の消失は続いている。さらに、諫早湾干拓事業による潮止めにより、約35km²の干潟・浅海域が消滅した^{4), 6)}。

有明海では、近年、二枚貝の漁獲量の減少⁷⁾、ノリの不作⁸⁾、赤潮の頻発化⁹⁾、貧酸素水塊発生の顕在化^{10), 11)}、干潟底質の汚泥化¹²⁾など、この海域環境の悪化が深刻化している

中、干潟の有する窒素及びリンの除去といった環境浄化機能が注目されている¹³⁾。その中でも、脱窒を中心とした浄化作用の定量的評価が重要視され、有明海域においては、干潟の浄化量の推定¹⁴⁾、DINなどの季節変動¹⁵⁾、窒素収支の変化¹⁶⁾など様々な調査研究が行われてきた。また、有明海奥部塩田川・鹿島川河口域における脱窒速度の評価も行われ、他海域における干潟と比較が成されたが、比較的低い水準であった(**Table 3-1**)¹⁷⁾。しかし、

Table 3-1 様々な河口域干潟における脱窒速度¹⁷⁾

Study area	Season	Denitrification rate (mg-N/m ² /d)
Shiota River & Kashima River estuary	Summer	2.3~14.1
	Winter	2.0~4.3
Banzu estuary, Tokyo Bay	—	0~3
Sanbanze estuary, Tokyo Bay	Summer	36.2~232.8
	Winter	14.0~101.2
Isshiki estuary, Mikawa Bay	Spring	0.62~0.75
	Autumn	0.95~5.82
	Winter	0.87
Kosugaya estuary, Ise Bay	Spring	0.07~0.35
Fujimae estuary, Ise Bay	Spring	0.69~10.02
Fujimae estuary, Ise Bay	Summer	0.0
	Winter	0.7~19.4
Shin River & Shonai River estuary	Summer	2.4~13.4
	Winter	2.1~91.9
Rokkaku River estuary, Ariake Bay	—	14.02
Kumamoto, Ariake Bay (Shira River, Midori River etc.)	Summer	30.60~69.10

他海域における研究では、主に砂質または砂泥質の干潟が多いなど底質の違い及び生物相、調査・試験方法などにも違いが見られることから、安易に比較することはできない。すなわち、有明海域全体における干潟の環境浄化能力を評価するには、底質の違いによる浄化速度の差異を把握することが不可欠だと考えられる。

さらに、脱窒作用を支える脱窒菌群の生息分布やその底質環境との関連性などは、必ずしも十分に究明されているとはいえない。また、広島湾における一連の有機物分解に関する研究では、干潟の粒径が浄化作用を大きく支配する要因とされている^{18), 19)}。そのため、有明海奥部に分布する砂質、砂泥質、泥質干潟域など、底質の違いと脱窒菌群の生息分布との関連性を把握することは、底質特性が脱窒作用へ及ぼす影響を知る上でも有意義であると考えられる。したがって、有明海域全体の物理、化学的環境や生物生産過程を視野に入れた総合的な環境対策を検討するためにも、砂質及び砂泥質、泥質などの干潟域における脱窒特性、さらには干潟域底質中での窒素循環メカニズムの究明が必要と言える。

本章では、干潟域底質の窒素循環の解明を前提に、有明海奥部の広域的な脱窒菌群の分布性や泥質干潟の脱窒活性と環境因子を明らかにすることを目的とし、特に脱窒菌群の広域的な生息分布及び脱窒速度の季節変化や、底質の違いが及ぼす脱窒菌群の生息数やその生息環境への影響について、調査及び実験データを基に検討、考察した。

3.2 実験概要

本章の実験において設定した有明海奥部干潟域の調査及び底質の採取地点①～⑭を Fig. 3-1 に示した。これらの 14 地点は、泥質、砂泥質及び砂質の干潟に点在する。また、地点①～⑭の所在地を Table 3-2 に示した。

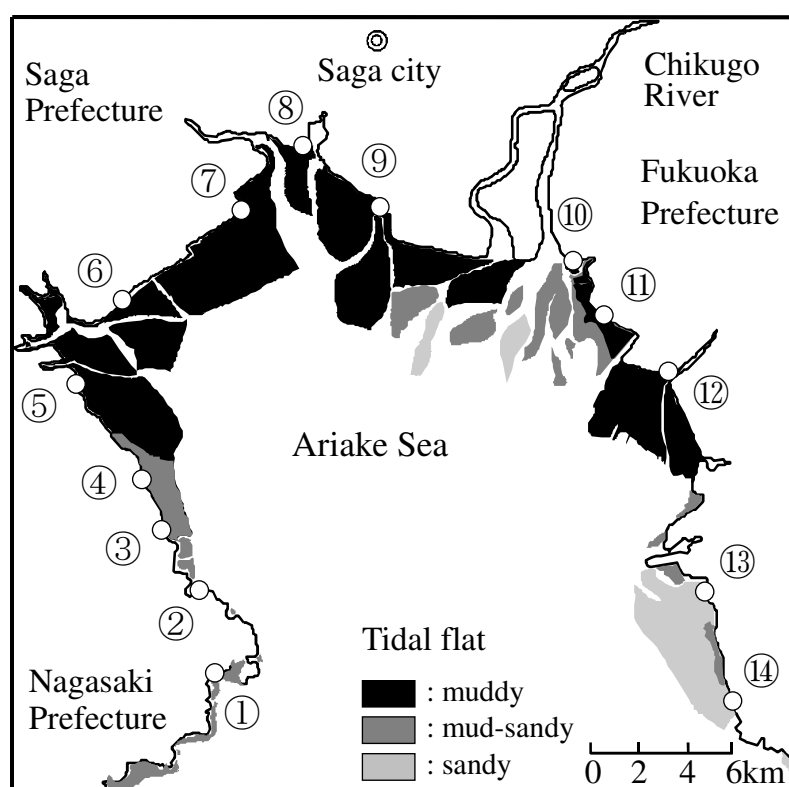


Fig. 3-1 調査及び底質の採取地点

奥部干潟域において、脱窒菌群数の広域的な分布性と底質との関連性を検討するために、14 地点において 2006 年 6, 8, 11, 12 月及び 2007 年 5, 8, 11, 12 月に現地測定と底質の採取をした。底質の採取に際しては、一般に脱窒菌群数が多く、脱窒活性の高い干潟表面から深さ 4cm までの底質を採取した。採取試料については、実験室で脱窒菌群数の計測と底質及び間隙水の化学分析を行った。また、コアサンプル（内径 83mm, 高さ 210mm）を用いて採取した底質について、干潟表面から深さ 10cm までの底質における脱窒速度の測定

Table 3-2 地点①～⑭の所在地

No.	Locations
①	長崎県諫早市小長井町井崎海岸
②	佐賀県藤津郡太良町大浦海岸
③	佐賀県藤津郡太良町太良海岸
④	佐賀県鹿島市飯田海岸
⑤	佐賀県鹿島市七浦干拓
⑥	佐賀県杵島郡白石町有明干拓
⑦	佐賀県杵島郡白石町福富海岸
⑧	佐賀県佐賀市久保田町江戸干拓
⑨	佐賀県佐賀市東与賀町東与賀海岸
⑩	福岡県柳川市昭南干拓
⑪	福岡県柳川市橋本干拓
⑫	福岡県柳川市大和干拓
⑬	熊本県荒尾市荒尾海岸
⑭	熊本県玉名郡長洲町長洲海岸

を行った。

現地では、温度と ORP メータによる酸化還元電位 (Eh) を測定した。なお、脱窒菌群数は Giltay 培地を用いて 30℃ で 1 週間培養した後、MPN 法に基づき算出した。また、底質については、有機態炭素 (Org.-C)、有機態窒素 (Org.-N) を、また底質間隙水及び底質直上水については、アンモニア態窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝酸態窒素 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、亜硝酸態窒素 ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) を定量分析した。なお、Org.-C、Org.-N 及び $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ の定量分析には、それぞれ CHN コーダ (JM-10, J-Science LAB) 及びオートアナライザー (SWATT, BLTEC) を用いた。

脱窒速度は、アセチレン阻害法^{20), 21)} で測定した。すなわち、採取した未攪乱のコア試料にアセチレンを飽和させた現地のろ過直上水 100ml をコア試料内部及び直上に注入し、

現地温度に設定したインキュベータで培養した後、コア試料上のヘッドスペース中の気体を採取してガスクロマトグラフ (G2700, Yanaco) で N_2O 濃度を測定した。そして、 N_2O 濃度の測定値から、(2.1) 式により単位面積当たりの脱窒速度 R_d ($\text{mg-N/m}^2/\text{d}$) を求めた。

3.3 結果及び考察

3.3.1 脱窒菌群の広域的分布について

有明海奥部干潟域における脱窒菌群数の広域的な分布性と底質との関連性について検討した。Fig. 3-2 に、地点①～⑭における 2006 年の各季節の含泥率を示す。ここでの泥は、2 μ m のふるいを通過したものとした。含泥率は西岸部の地点①～④で 22～47%（砂泥質），中央部の地点⑤～⑫で 71～99%（泥質），東岸部の地点⑬，⑭で 6～11%（砂質）であり，奥部干潟域の大部分は泥質干潟となっている。この泥質干潟の形成には，有明海奥部の物質輸送に大きな役割を果たしている還流（残差流）の分布，すなわち湾奥内の水流が反時計回りであるために西岸部に細かい泥粒子が堆積すること，また奥部に流入する九州最大の河川である筑後川からの多量の土砂流入が大きく影響していると考えられる²⁴⁾。

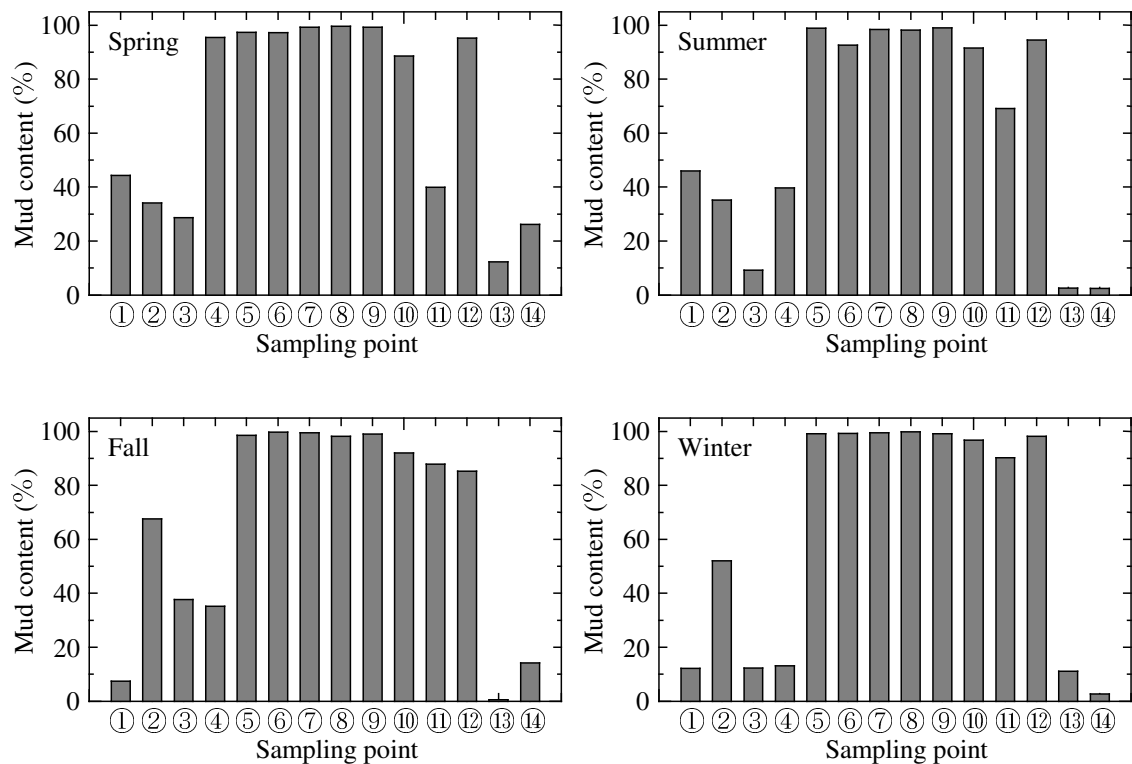


Fig. 3-2 地点①～⑭の 2006 年における各季節の含泥率

また、地点⑩において底質の細粒化が見られ、地点⑩を除いた泥質干潟においては、年間を通して含泥率の変動が小さく、砂泥質における変動が大きかった。

Fig. 3-3 に、有明海奥部干潟域の 14 地点の 2006 年 6 月、8 月、11 月、12 月及び 2007 年 5、8、11、12 月における底質表層（0～4cm）の脱窒菌群数の分布を示した。底質表層の脱窒菌群数の季節的推移は各地点によって大きく異なり、春季で平均約 1.4×10^3 cells/g-dry soils (DG)、夏季で平均約 6.5×10^4 cells/DG、秋季で平均約 1.3×10^3 cells/DG、冬季で平均約 1.3×10^3 cells/DG であった。このように、夏季における底質表層の脱窒菌群数は、他の季節と比較して 1 オーダー高かった。また、年間を通して見た場合、脱窒菌群数は、最奥部の含泥率の高い底質表層において多く分布する傾向が見られた。特に、夏季における最奥部の泥質干潟（地点⑤～⑫）の脱窒菌群数は多く、平均約 1.9×10^5 cells/DG であったことから、底質における含泥率の違いは、脱窒菌群の生息数に大きな影響を及ぼしていると考えられる。

Fig. 3-2 の含泥率の結果を基に、有明海奥部干潟域における地点①～⑭の底質を砂質（⑬、⑭）、砂泥質（①～④）、泥質（⑤～⑫）の 3 種に区分し、それぞれの底質における脱窒菌群の生息分布の違いを検討した。**Fig. 3-4** に、砂質、砂泥質及び泥質の各底質における 2006 年と 2007 年の各季節平均の脱窒菌群数を示す。2007 年の春季を除き、いずれの季節においても泥質における脱窒菌群数が最も多く、各底質における脱窒菌群数は砂質で約 5.8×10^2 cells/DG、砂泥質で約 1.1×10^3 cells/DG、泥質で約 5.0×10^4 cells/DG と、含泥率の増加に伴って増大する傾向が見られる。これは、含泥率の上昇に伴って底質中の有機物含有量が増大すること²⁵⁾ や脱窒菌群の生息に適した嫌気的環境が形成されやすいことなどによるものと推察される。また、脱窒菌群数は夏季に最も多く、その他の季節と比較して 1 オーダー以上の差異が見られる。これは、脱窒菌群の炭素源である有機物が夏季に筑後川をはじめ、奥部に流入する大小の河川からの出水に際して奥部干潟域に多く搬入されることや泥温が上昇することによるものと考えられる。

Fig. 3-4 の結果より、脱窒菌群数と含泥率の間には高い関連性があると考えられる。そこで、**Fig. 3-5** に、各季節での底質表層の含泥率と脱窒菌群数の関係を示した。いずれの季節においても、脱窒菌群数と含泥率との間には高い正の相関性 ($r=0.75 \sim 0.92$) が見られたが、

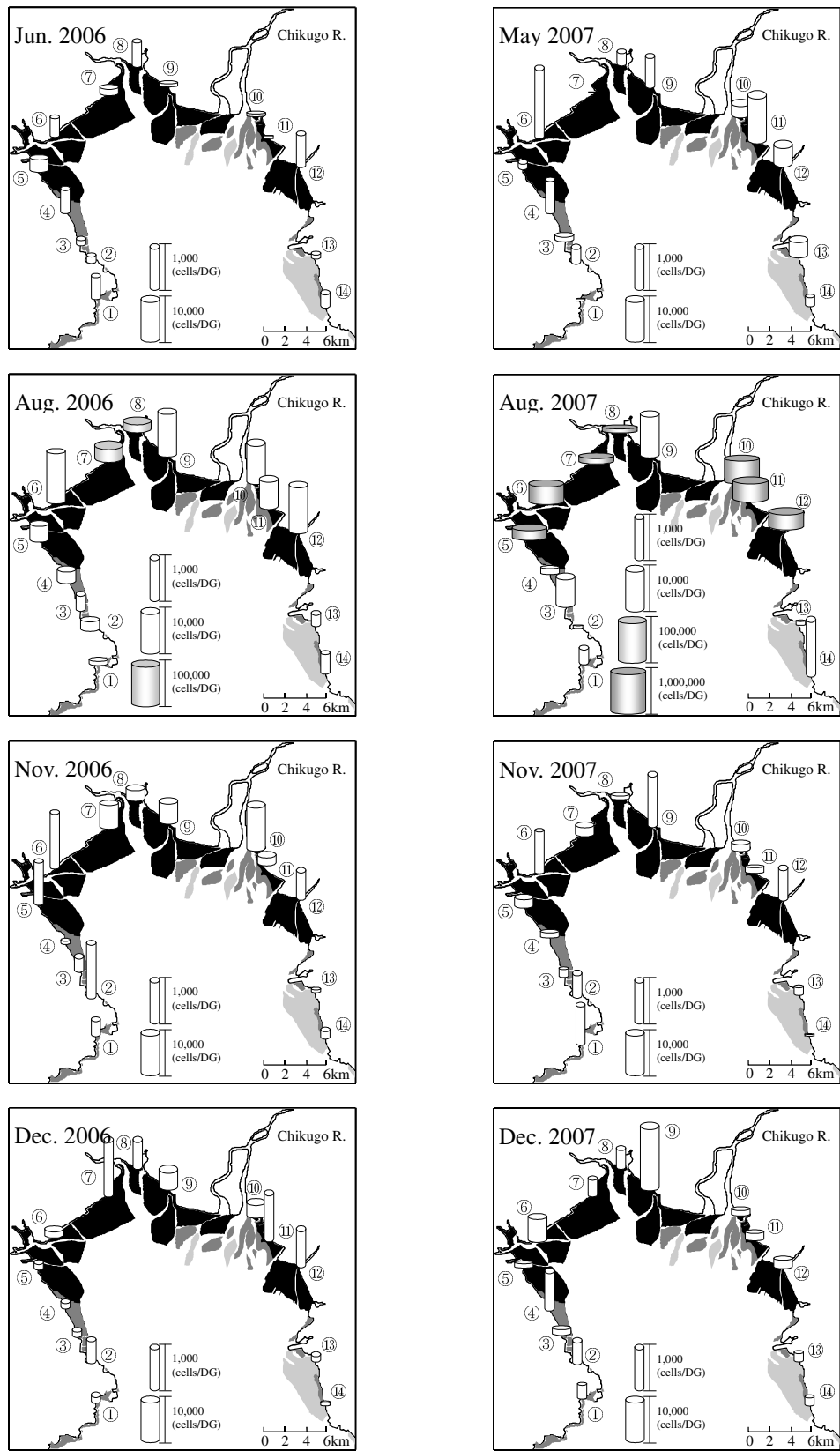


Fig. 3-3 地点①～⑭の2006年と2007年における脱室菌群数の分布

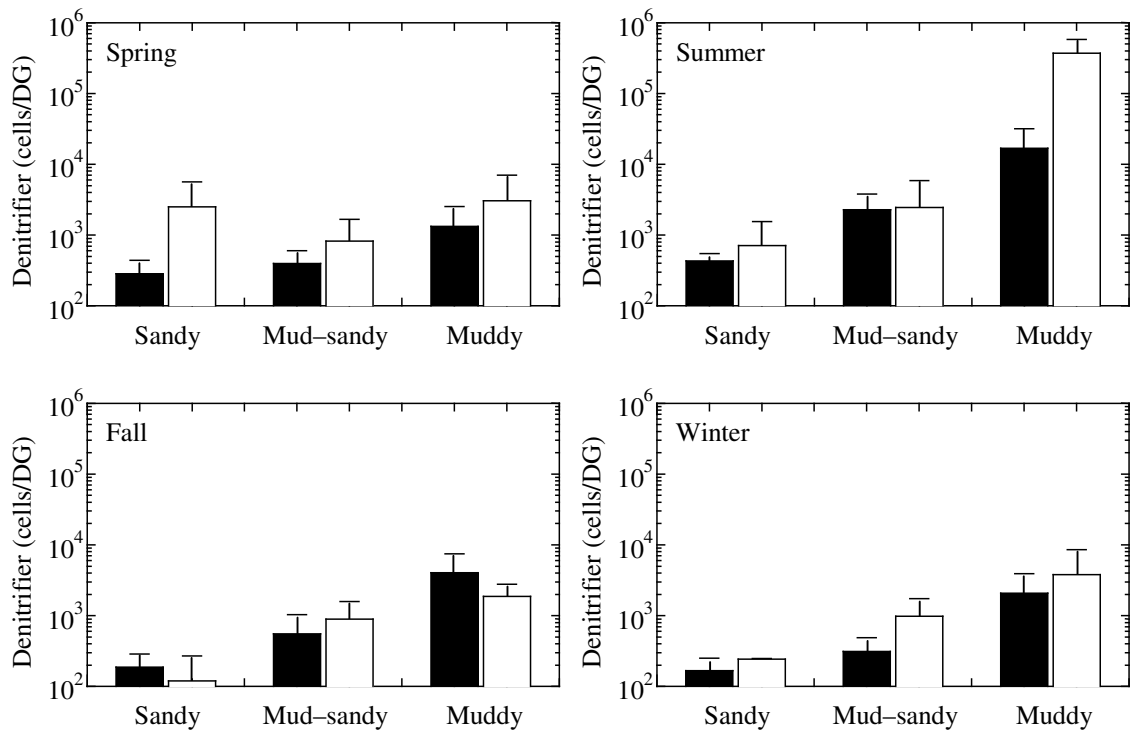


Fig. 3-4 2006年と2007年における底質の各季節平均の脱窒菌群数 (■ : 2006, □ : 2007)

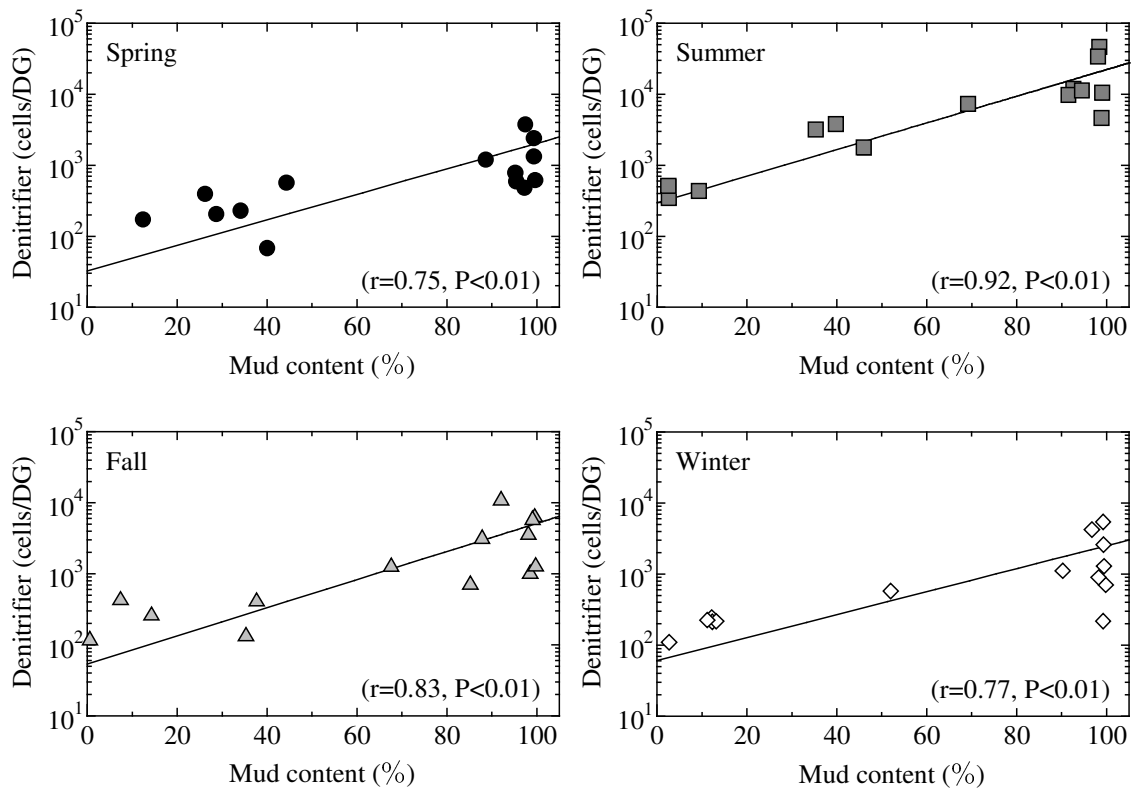


Fig. 3-5 2006年における各季節の脱窒菌群数と含泥率との関係

夏季の回帰直線の勾配が最も大きく、冬季のそれが最も小さかった。すなわち、含泥率は、特に夏季において脱窒菌群数を大きく左右すると考えられる。

3.3.2 脱窒菌群の生息環境について

Fig. 3-6 に、脱窒菌群の生息環境要素として重要な各地点の底質表層の試料採取時における温度と Eh の季節変化を示した。測定時間が異なるため厳密に比較することはできないが、一般的に底質表層の温度は夏季に約 32.1℃と最も高く、逆に冬季に約 12.2℃と低かった。また、Eh の季節変化は各地点で大きく異なったが、温度の高い夏季に低く、逆に温度の低い冬季に高くなる傾向を示した。これは、温度の高い夏季においてバクテリアによる底質表層中の有機物の分解が促進され、酸素消費量が增大したこと、一方、温度の低い冬季においては、バクテリアによる底質表層中の有機物の分解が抑制され、酸素消費量が大きく減少したことによると推察される。しかし、地点⑬、⑭の Eh は、年間を通した変動は他の地点と比較して小さかった。これは、両地点の底質が粒子の大きな砂質であるため、物質の移動が比較的容易で、潮汐による干出・冠水の影響を受けやすく、また、夏季ではマクロベントスによるバイオターベーションの増進により、底質中への酸素補給量が増加したこと、一方、冬季ではバイオターベーションの衰退により、酸素補給量が減少したことを反映したと推察される。さらに、底質の温度及び Eh は、年間を通して、それぞれ約 20℃

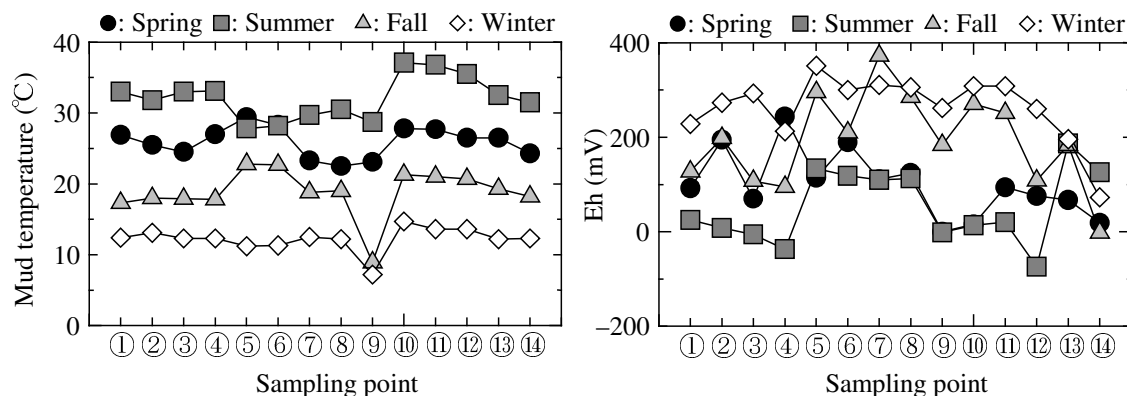


Fig. 3-6 地点①～⑭の2006年と2007年における底質の温度及びEhの平均値

及び約 210mV と大きく変化している。したがって、このような各季節における脱窒菌群の生息環境要素の差異が、上述した各季節間の脱窒菌群数の大きな違いや地点間の分布性に強く影響したと考えられる。

主な脱窒菌群は従属栄養細菌であり、代謝の際のエネルギー源として専ら有機物を利用する。Fig. 3-7 及び Fig. 3-8 に、2006 年と 2007 年におけるの各季節の有機物量 (Org.-C, Org.-N) の平均値を示す。Org.-C 及び Org.-N は、夏季に大きく増大し、全体的に泥質に多く存在する傾向が見られた。また、年間を通した値は、それぞれ 2.68% 及び 0.34% であり、他海域の有機物量と比較して高い値であった^{26) ~29)}。

そこで、含泥率と有機物量の関連性について検討した。Fig. 3-9 及び Fig. 3-10 に、各季節での底質表層の含泥率と有機物量 (Org.-C, Org.-N) との関係を示した。Org.-C 及び Org.-N は、全般的には含泥率の増加に伴って増大する傾向が見られた。これは、粘土分を多く含む、含泥率の高い地点ほど潮流や波によって巻き上げられた浮泥による有機懸濁物の吸着・沈降量が多いこと³⁰⁾ や比重の小さな、軽い有機物残渣が堆積し易いことなどを反映したと考えられる。しかし、各季節によって、両者の間の相関性や回帰直線の勾配に差異が見られた。すなわち、含泥率と Org.-C の相関性は、冬季に高く、逆に春季に低かった。また、回帰直線の勾配は、相関性の高い冬季に大きく、逆に相関性の低い春季に小さかった。さらに、含泥率と Org.-N の相関性は、春季及び冬季に高く、逆に夏季及び秋季に低かった。また、回帰直線の勾配は、相関性の高い春季及び冬季に大きく、逆に相関性の低い夏季及び秋季に小さかった。冬季において含泥率と Org.-C 及び Org.-N の相関性が高く、勾配が大きくなったのは、巻き上げられた浮泥による有機懸濁物の吸着・沈降量や有機物残渣の堆積量が含泥率の高い地点ほど増加すること、さらに、冬季では、これらの有機物が分解されずに底質中に蓄積されることによると考えられる。また、夏季および秋季において、含泥率と Org.-C 及び Org.-N の相関性が低下し、回帰直線の勾配が小さくなったのは、各地点で底質中のバクテリアによる有機物の分解活性に大小の差異が生じ、底質中の有機物量にばらつきが生じたためと推察される。さらに、春季においては、含泥率と Org.-N の相関性が高く、勾配が大きかったが、含泥率と Org.-C の相関性は低く、勾配も小さかった。このような相反する傾向が見られたのは、春季が前年の冬季から夏季及び秋季への移行期のた

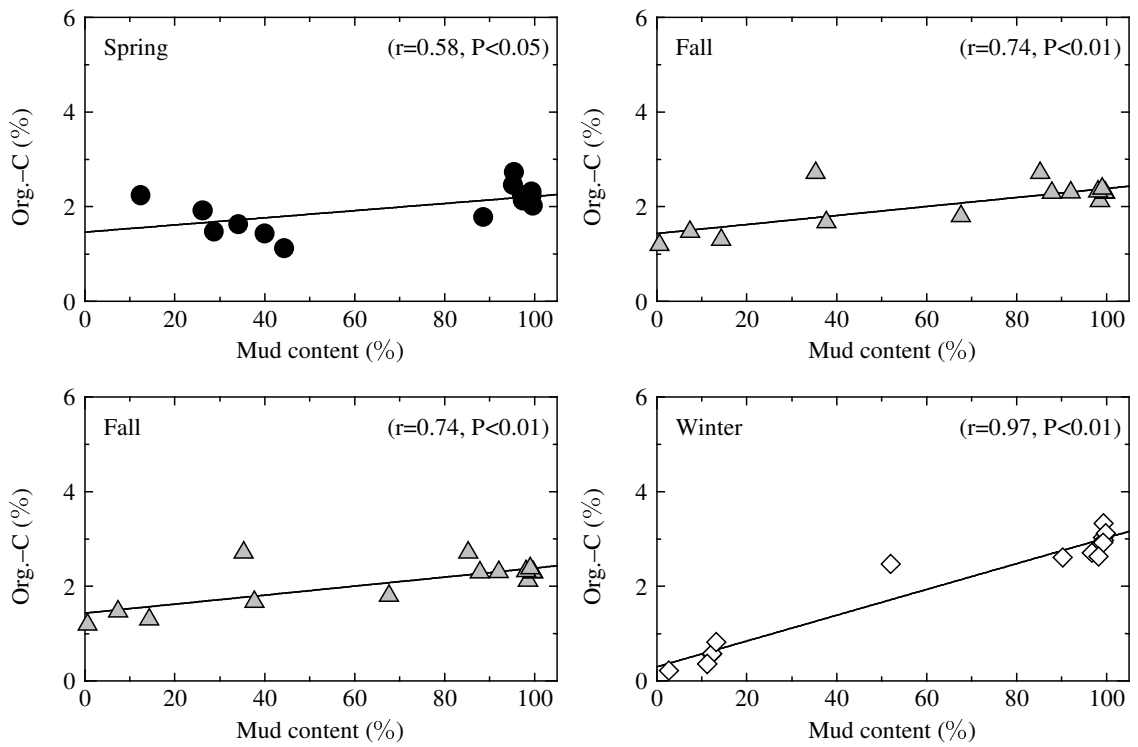


Fig. 3-9 2006年における各季節の含泥率と有機態炭素 (Org.-C) の関係

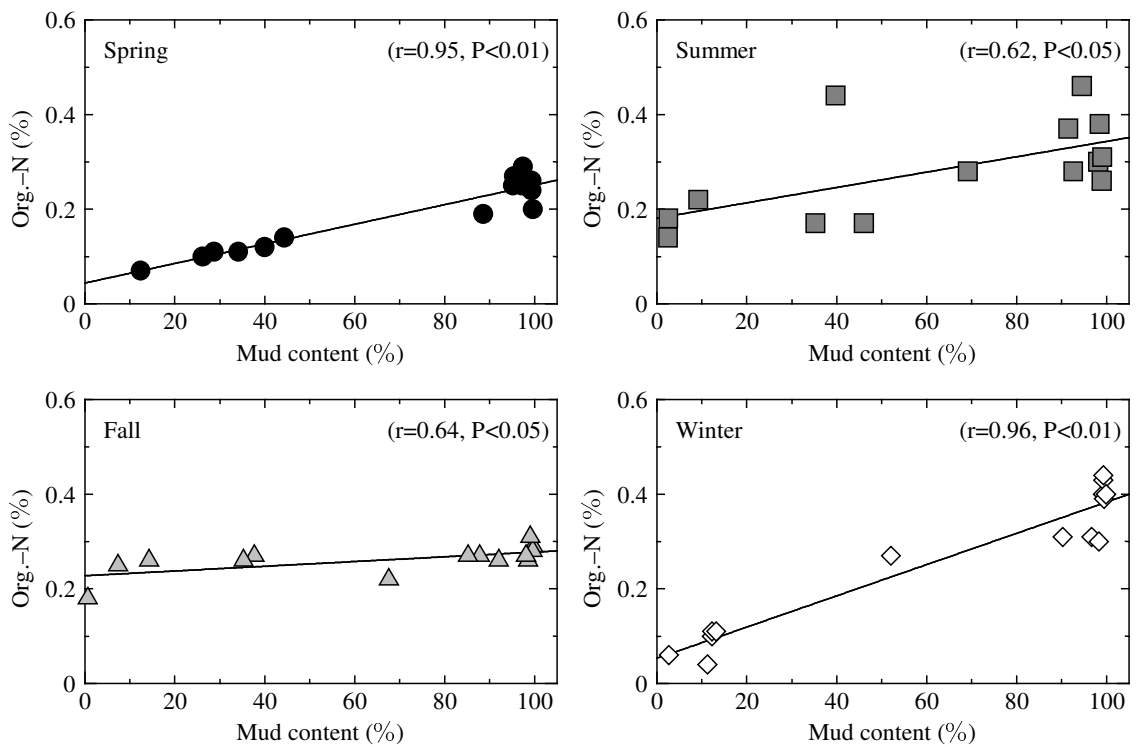


Fig. 3-10 2006年における各季節の含泥率と有機態窒素 (Org.-N) の関係

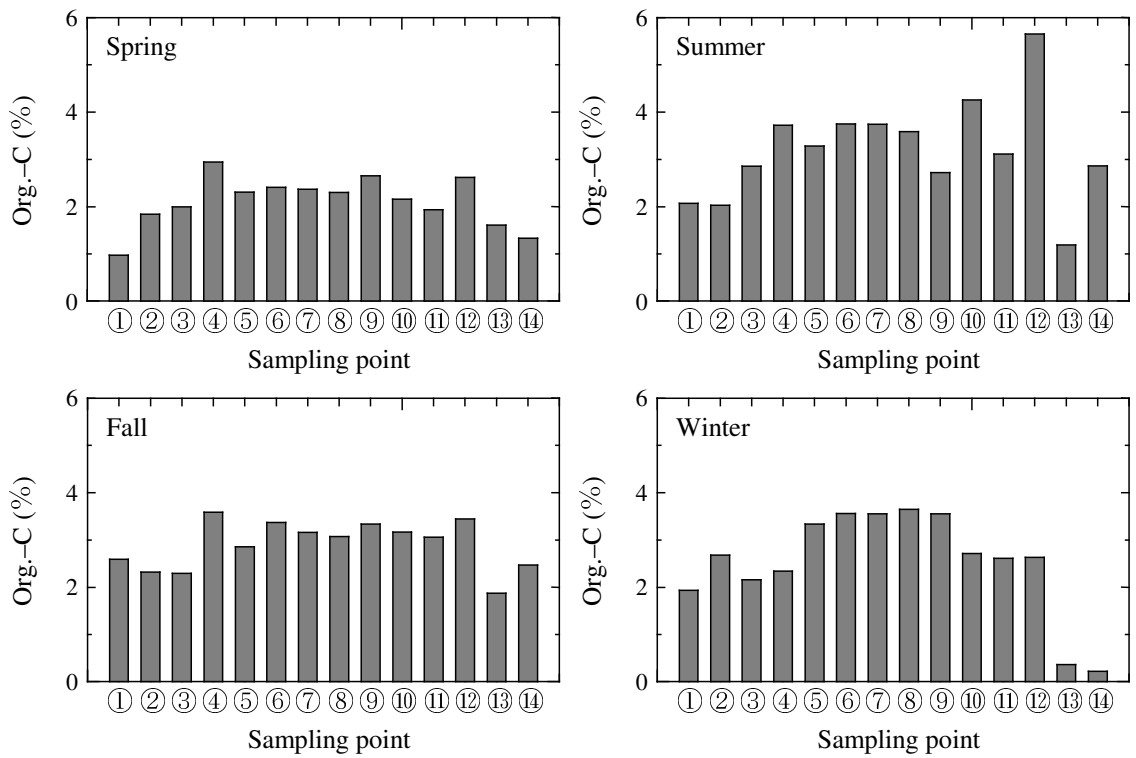


Fig. 3-7 2006年と2007年における各季節の Org.-C の平均値

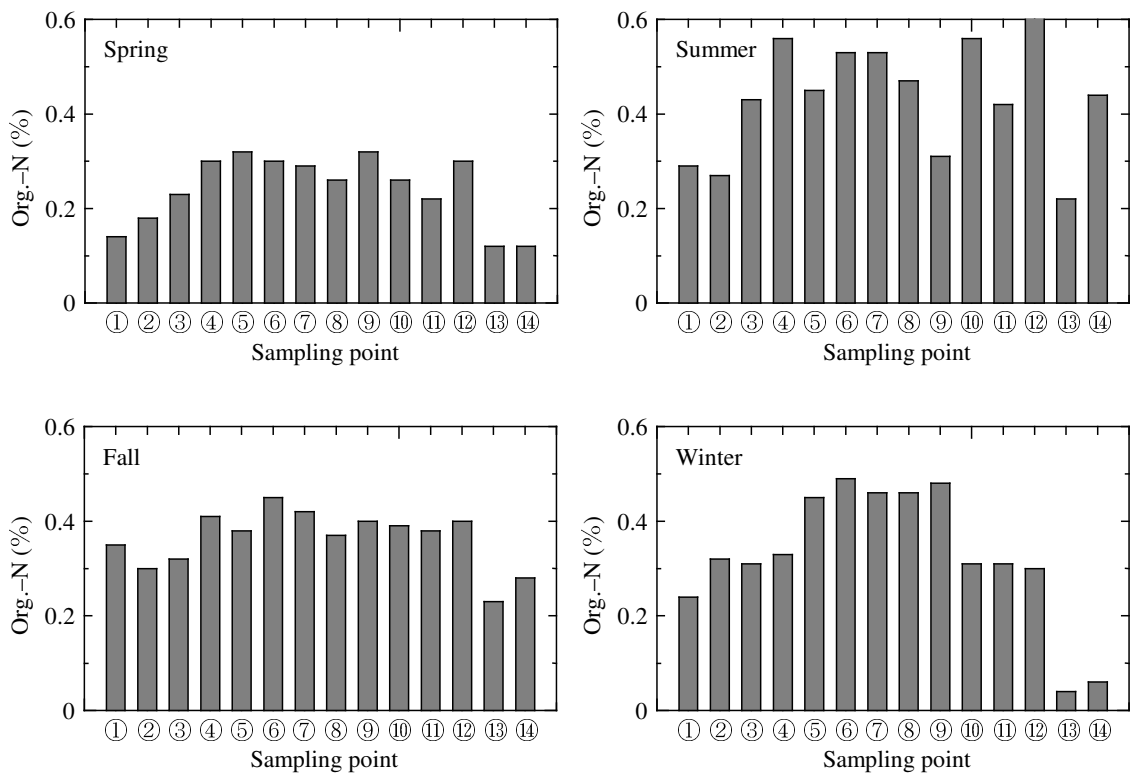


Fig. 3-8 2006年と2007年における各季節の Org.-N の平均値

め、両期間の中間的性状が両者の関係に反映されたと考えられる。

脱窒菌群は、脱窒の際の電子受容体として NO_x (NO_3^- , NO_2^-) を利用する。そこで、**Fig. 3-11** 及び **Fig. 3-12** に、2006 年と 2007 年におけるの各季節の DIN ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$) 濃度の平均値を示す。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、夏季において平均約 2.80mg/l と著しく増大し、冬季に平均約 0.62mg/l と減少した。特に、一級河川の河口域に近い地点⑩、⑫では、夏季においてそれぞれ 5.45mg/l, 9.24mg/l と高い値を示した。この夏季における $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の増加は、前述した有機物量 (**Fig. 3-9** 及び **Fig. 3-10**) のそれと密接に関連しており、河川流入量の増加に伴い有機物供給量が増大し、泥温の上昇に伴ってバクテリアによる有機物の分解・無機化が促進されたためと考えられる。一方、冬季における $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の減少は、泥温の低下に伴ってバクテリアによる有機物の分解が抑制されたためと考えられる。

$\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度と比較して全般的に低い値を示し、夏季においては平均約 0.04mg/l と非常に低かった。また、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、春季及び夏季に低く、秋季及び冬季に高くなる傾向が見られた。夏季における $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度の減少は、泥温が高く

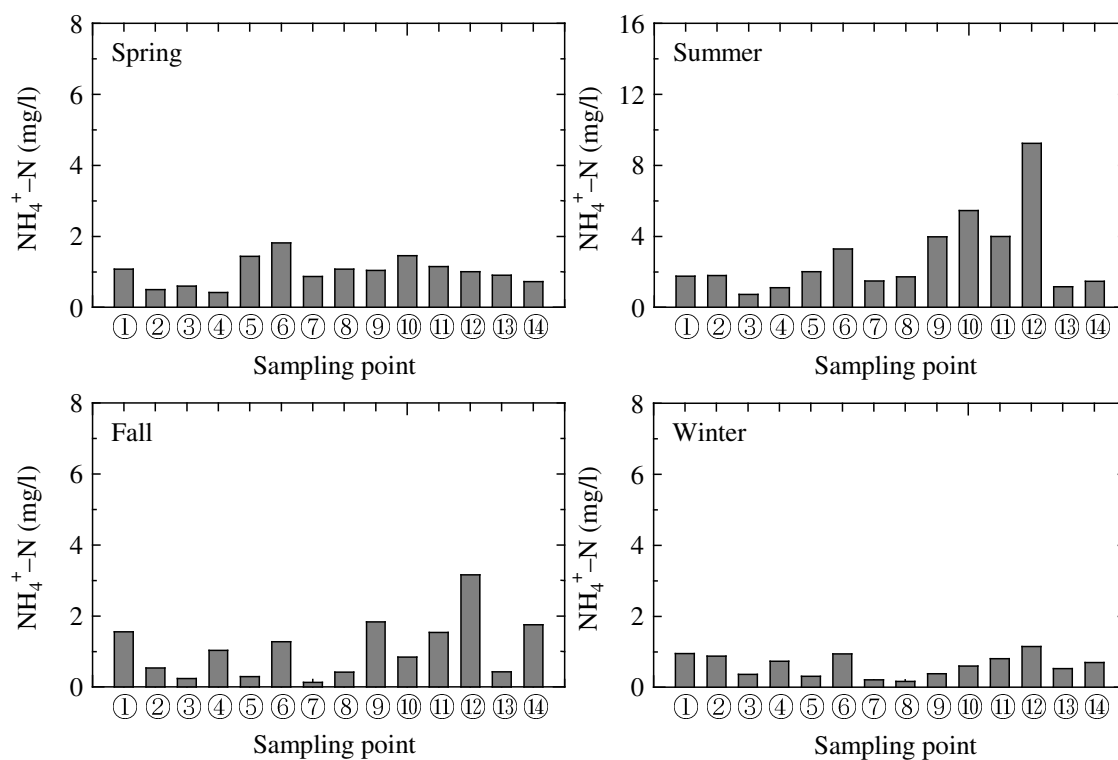


Fig. 3-11 2006 年と 2007 年における各季節の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の平均値

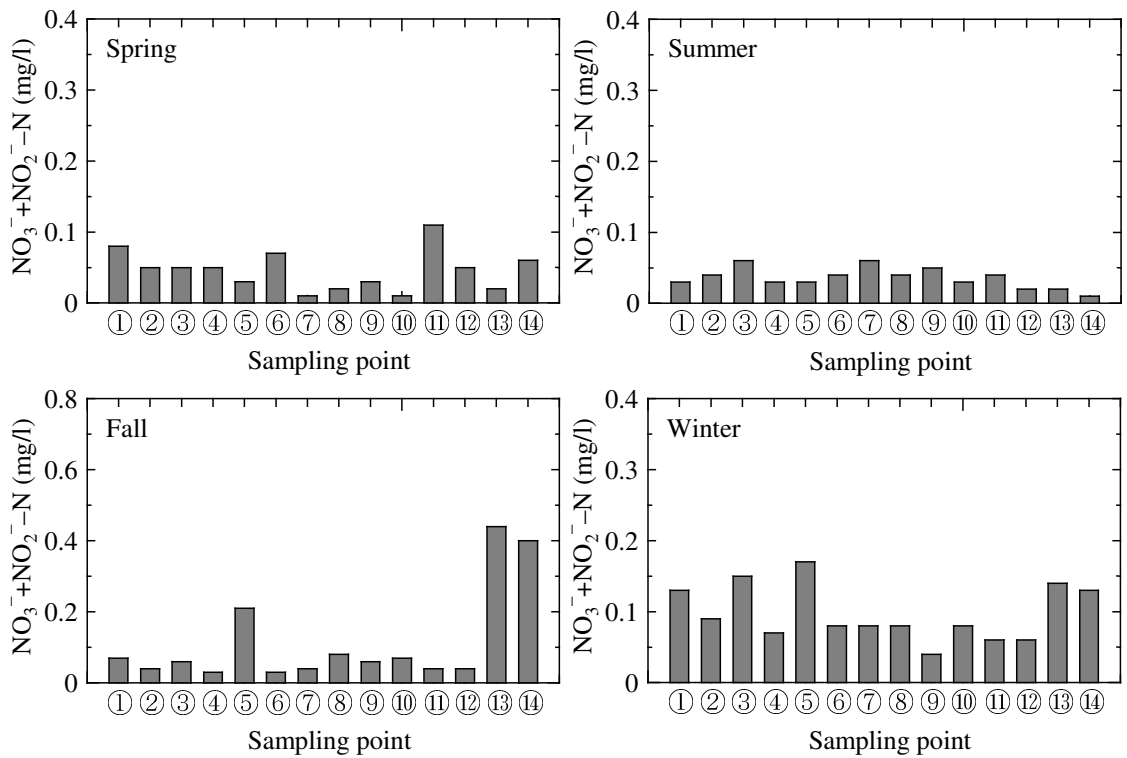


Fig. 3-12 2006年と2007年における各季節のNO₃⁻+NO₂⁻-N濃度の平均値

Eh が約-74~187mV の範囲にあることから (Fig. 3-6), 底質中において硝化作用が抑制され脱窒作用が促進されやすい状態にあり³¹⁾, 生成された NO₃⁻+NO₂⁻-N の大部分は脱窒により速やかに消費されたためと考えられる. 一方, 冬季における NO₃⁻+NO₂⁻-N 濃度の増加は, 泥温が低く Eh が平均約 262mV と高いことから (Fig. 3-6), 硝化が促進され, 脱窒作用による NO₃⁻+NO₂⁻-N 消費の減少が起こったためと考えられる.

3.3.3 脱窒速度の広域的分布について

本研究では, 干潟が持つ環境浄化能力の評価として脱窒速度を用いた. 有明海奥部干潟域の地点①~⑭における脱窒速度と脱窒作用を担う脱窒菌群について検討した. Fig. 3-13 に, 2007 年における各季節の脱窒速度の平均値を示す. 脱窒速度は, 春季, 夏季, 秋季, 冬季において, それぞれ約 0.26~1.59mg-N/m²/d, 約 0.38~7.88mg-N/m²/d, 約 0.35~

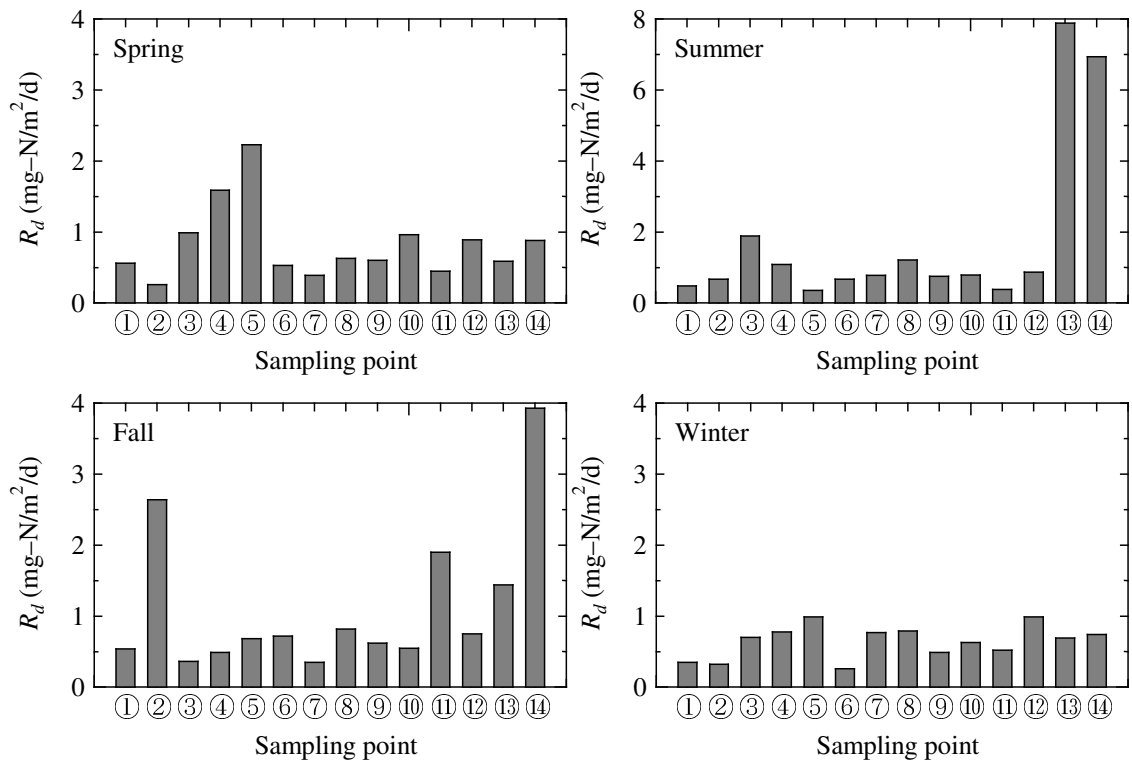


Fig. 3-13 2007年における各季節の脱窒速度の平均値

3.93mg-N/m²/d, 約 0.32~0.99mg-N/m²/d であり, 全般的に, 夏季に高く冬季に低い傾向を示した. これは, 泥温の高い夏季では脱窒作用の起こりやすい還元的な底質であること, 逆に泥温の低い冬季では脱窒作用が抑制される酸化的な底質であることが考えられる (Fig. 4-6). しかし, 夏季において, 脱窒菌群が多数存在し, 脱窒作用が活性化されるような底質環境であるにもかかわらず, 脱窒速度は平均約 1.77mg-N/m²/d と著しい増大が見られなかった. これは, 脱窒菌群の電子供与体である有機物量が豊富であるにもかかわらず, 電子受容体となる NO₃⁻+NO₂⁻-N 濃度がゼロに近い状態であり, NH₄⁺-N 濃度が高いことから, 硝化による NO₃⁻+NO₂⁻-N の生成が抑制され, 脱窒作用が制限されたためと推察される (Fig. 3-9~Fig. 3-12).

また, 夏季の地点⑬, ⑭において, 脱窒速度 (R_d) の著しい増加 (約 7.88mg-N/m²/d, 約 6.94mg-N/m²/d) が見られた. 夏季における泥温の上昇に伴って, バクテリアによる有機物分解の促進によって底質の酸素消費量が増加し, マクロベントスによるバイオターベーションの増進によって底質への酸素補給量が増加することで, 酸化的部位と還元的部位の両

方が形成される。また、地点⑬、⑭の底質は、それぞれ含泥率が平均約 6.7%、11.4%の砂質干潟であることから、物質の移動が比較的容易である。この 2 つの観点から、底質中では、硝化及び脱窒作用が連結して行われ、脱窒速度が増加したものと推測される。

さらに、各地点における脱窒速度と脱窒作用を担う脱窒菌群数の季節変化を見ると、両者は必ずしも対応していない (Fig. 3-14)。特に、砂質干潟である地点⑬、⑭については、夏季及び秋季における脱窒速度の増減は、脱窒菌群数のそれと逆の傾向を示した。夏季における脱窒速度と脱窒菌群数の関係に注目すると、地点⑬、⑭の脱窒菌群数が平均約 5.7×10^2 cells/DG であるのに対し、脱窒速度は平均約 $7.41 \text{ mg-N/m}^2/\text{d}$ であった。これを脱窒のポテンシャルとするならば、その他の地点では、脱窒ポテンシャルが高いにも関わらず、何らかの要因で脱窒作用が活性化されていないと考えられる。

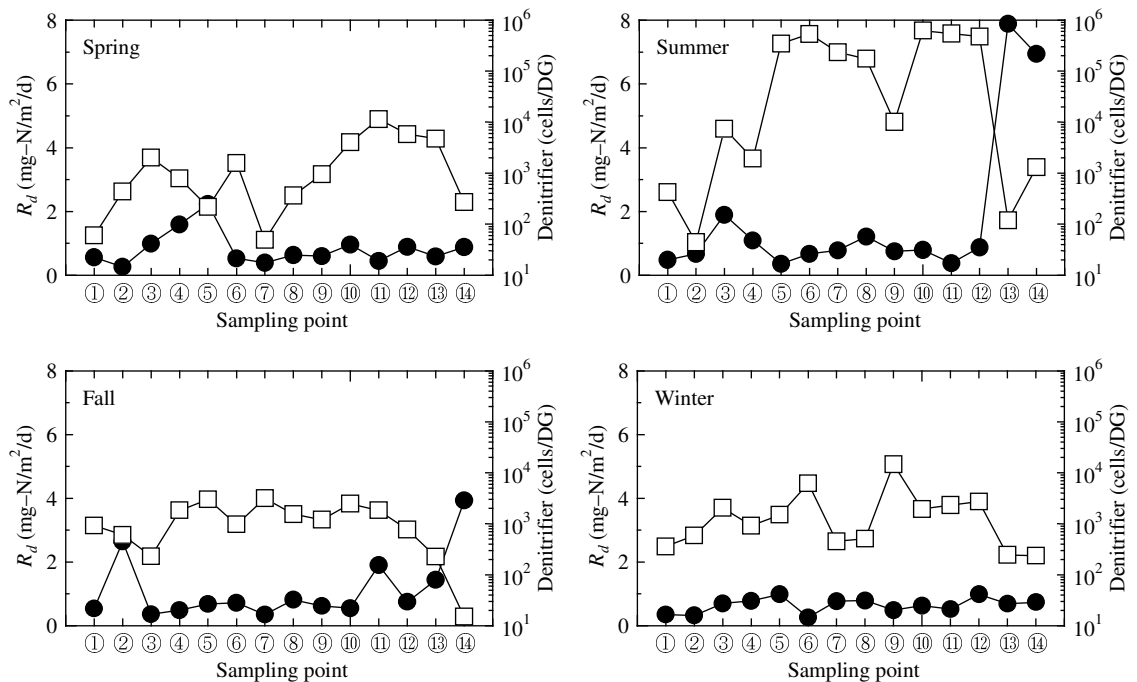


Fig. 3-14 2007 年における底質の各季節の脱窒速度と脱窒菌群数 (● : 脱窒速度, □ : 脱窒菌群数)

3.4 結論

本章では、有明海奥部干潟域において、脱窒作用を担う脱窒菌群の広域的な生息分布や底質環境との関連性について、調査及び実験データに基づき、検討、考察した。その結果、明らかになった知見を要約すると次のようになる。

- 1) 奥部干潟域における底質表層（干潟表面から深さ 4cm）の脱窒菌群数は、干潟の底質特性や季節により大きく異なった。特に夏季における最奥部の泥質干潟（地点⑤～⑫）の脱窒菌群数は多く、平均約 1.9×10^5 cells/DG であった。これは、脱窒菌の電子供与体である有機物が夏季に大小の河川から出水時などに奥部の泥質干潟域に多く搬入されること、さらには脱窒菌群の生息に適した部位（不連続層）が形成されやすいことなどによるものと推察される。
- 2) 底質中の脱窒菌群数と含泥率の間には、高い正の相関性 ($r=0.75\sim0.92$) が見られた。特に夏季においては、含泥率は脱窒菌群数を左右する重要な要素であると考えられた。これは、含泥率が底質中の Eh に直接的に影響すると同時に、含泥率が脱窒菌群の代謝の際に電子供与体となる有機物量と密接な関係にあるためと推察された。
- 3) 底質中の有機物量 (Org.-C, Org.-N) は、夏季に増加し、また含泥率の増加に伴って増大する傾向が見られ、正の相関性 ($r=0.58\sim0.97$) が見られた。これは、粘土分を多く含む、含泥率の高い地点ほど有機懸濁物の吸着・沈降量が多いことや有機物残渣が堆積し易いことなどを反映したと考えられる。
- 4) 底質中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、夏季に増加し冬季に減少する季節変化を示した。特に、一級河川の河口域に近い地点では、夏季において著しく高い値を示した。この $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の増減は、有機物量及び泥温、Eh と密接に関連していると考えられる。また、

$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度は、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度と比較して全般的に低い値を示し、春季及び夏季に低く、秋季及び冬季に高くなる傾向が見られた。この $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度の増減は、底質中での硝化・脱窒作用の活性・不活性化を反映しているものと考えられる。

- 5) 脱窒速度は、全般的に夏季に高く冬季に低い傾向を示した。また、その季節変化は、脱窒作用を担う脱窒菌群数のそれとは対応しなかった。

第4章 干潟域及び浅海域における脱窒菌群数の分布及び底質環境の季節変化

4.1 緒論

潮間帯である干潟は、下げ潮と上げ潮により干出と冠水を周期的に繰り返す。この周期的な環境変化は、底質における有機物の無機化作用や栄養塩を含む物質循環など生化学的環境のみならず、底質の物理的環境にも影響を及ぼす。また、この干出と冠水は、生物の分布や生活を規定するだけでなく、海陸双方からの強い捕食圧を受けるとともに、諸活動に時間的制約を与え活動のリズムとなる^{1), 2)}。このように変動する環境の中、干潟は、ベントス群集をはじめ、鳥類や魚類などの外部から周期的に訪れる回遊者によって、干潟の持つ干満潮という 2 つの位相を交互に利用する食物連鎖が形成され、高い生産性が保たれている。また、底質が干出している間は、蒸発や排水による底質中の水分の損失が起こる。底質中の間隙水は溶存物質の輸送媒体であるため、水分の蒸発は溶存物質の濃度勾配を変える可能性がある。また、水分の損失により底質の圧縮あるいは空になった間隙に空気が入るなど、底質構造も変わる可能性がある。このように、干出・冠水を繰り返す干潟域では、干出することがない浅海域とは異なった酸素分布の変動や複雑な栄養塩動態が知られている³⁾。

内湾沿岸域に供給される栄養塩の中で、海底から海水中に供給される窒素とリンの量は、基礎生産要求量の 11~40%と言われており⁴⁾、海底堆積物中の栄養塩動態は、海域の基礎生産を考える上で重要な因子である。特に、閉鎖性の強い有明海奥部浅海域では、海底から溶出した栄養塩の水質環境に及ぼす影響は大きいものと考えられる⁵⁾。しかし、これまで干潟域と浅海域を含めた栄養塩動態の季節変化や有機物の沈降・堆積から底質内での栄養塩の生成・溶出に至るまでの一連の過程は、いまだ十分に明らかにされていない。さらに、年間を通した、泥質干潟から浅海域における底質中の栄養塩動態に関する報告例⁶⁾も

少ない。

干潟から沖合へ続く浅海域では、干潟から流出した水塊の影響を受け、逆に干潟域では、浅海域から干潟へ流入する水塊の影響を受けていると考えられている。そのため、干潟の物質循環あるいは浄化能力の評価を行うには、干潟域だけでなくそれに続く浅海域も含めて縦断方向に総合的に評価することが重要である^{7)~9)}。したがって、海域における総合的な環境対策を検討するためにも、両域における栄養塩動態や底質環境の特徴を解明する必要がある。また、干潟域においては、周期的な干出・冠水によって、栄養塩動態を含む底質環境及び脱窒菌群の生息分布の変化を把握することも不可欠と考えられる。

本章では、干潟域底質の窒素循環メカニズムの解明を前提に、有明海奥部の広域的な脱窒菌群数の分布性や泥質干潟の脱窒活性とその環境因子を明らかにすることを目的とし、有明海奥部における冠水した干潟域からその沖合の浅海域において、脱窒菌群の生息分布と底質環境の時空間的な季節変動を明らかにし、潮汐が及ぼす脱窒への影響について、調査及び実験データに基づいて検討、考察した。

4.2 実験概要

本章の実験において設定した有明海奥部における干潟域及び浅海域の調査及び底質の採取地点を **Fig. 4-1** に示す。これらの地点 A~C 及び地点 D~G は、沿岸域から沖合に設定した測点のうち、それぞれ干潟域及び浅海域に位置する。また、干潟域における冠水時と干出時での底質の比較を行うため、X 地点において同期間、干潮時に毎月 2 回の現地観測と底質の採取を行った。

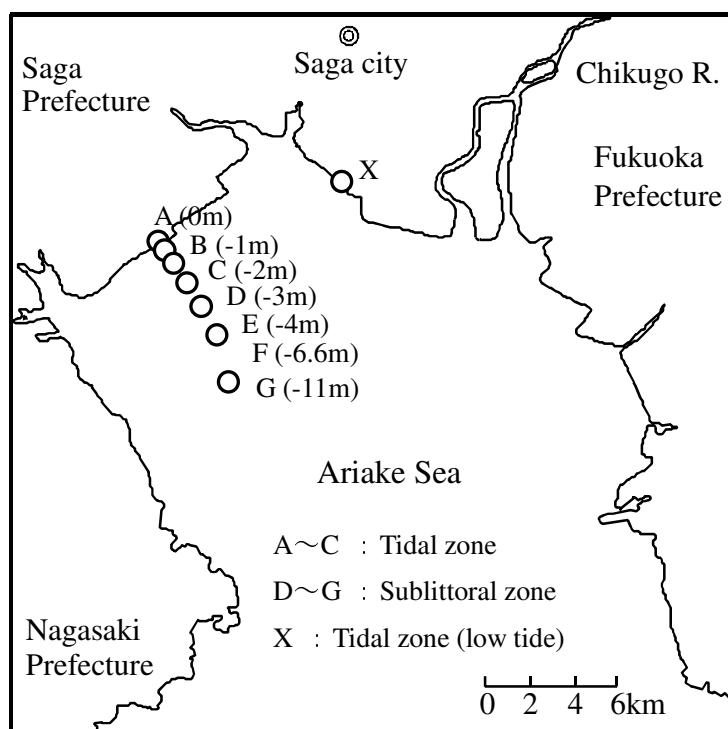


Fig. 4-1 調査及び底質の採取地点

干出及び冠水を繰り返す干潟域と潮下帯である浅海域での脱窒菌群数の分布性を比較するために、佐賀県杵島郡白石町沖に設定した地点 A~G において、2007 年 8 月から 2008 年 7 月に毎月 1 回、朔の大潮時に、用船により現地観測とコアサンプラーによる底質の採取を行った。なお、最も標高が高い地点 A の調査が満潮時にできるように、上げ潮から満潮に

かけて2時間以内に実施した。

複数のコアサンプル（内径 56mm, 長さ 500mm）をダイバーによって採取後、直ちにサイフォンによりコア内から底質直上の海水を採取した。その後、船上でコアを層別（表面～2cm は 1cm 間隔, 2～10cm は 2cm 間隔, 15～16cm 及び 20～21cm の計 8 層）に切り分け、各層の泥温及び酸化還元電位（Eh）を測定した。底質コアについては、密栓して持ち帰り、実験室において速やかに層別（表面～2cm は 1cm 間隔, 2～10cm は 2cm 間隔の計 6 層）に切り分け、水質及び底質の化学分析に供した。また、表層～1cm の層における脱窒菌群数の計測を行った。

脱窒菌群数は Giltay 培地を用いて 30°C で 7 日間培養した後、MPN 法¹⁰⁾に基づき算出した。底質直上水及び底質試料を遠心分離（4,000rpm, 5min）して採取した底質間隙水については、メンブランフィルター（0.45µm）でろ過し、冷凍保存した。後日解凍した試料について、オートアナライザー（SWATT, BL TEC）を用いて NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, NO₂⁻-N, PO₄²⁻-P 及び TN, TP を定量分析した。底質については、1N-HCl で炭酸カルシウムを除去後、CHN コーダ（JM-10, J-Science LAB）を用いて有機態炭素（TOC）と全窒素（TN）を定量分析した。底質の全リン（TP）に関しては、底質調査方法¹¹⁾にならい、硫酸-硝酸分解法による処理後、抽出した溶液の TP をオートアナライザーにより定量分析した。

4.3 結果及び考察

4.3.1 脱窒菌群数の季節変化

脱窒菌群の生息分布について、有明海奥部干潟域及び浅海域における海域環境の違い、また干潟域における干出と冠水による底質環境の違いを検討するため、満潮時の干潟域（地点 A～C）と浅海域（地点 D～G）、干潮時の干潟域（地点 X）の3種に底質を区分した。

Fig. 4-2 に、地点 A～C、地点 D～G、地点 X の底質表層（表面～1cm）における脱窒菌群数の季節変化を示す。脱窒菌群数は、それぞれ 2007 年 10 月に約 6.0×10^3 cells/DG、約 3.9×10^3 cells/DG、約 2.7×10^4 cells/DG と最大値を示し、その後一時的に減少するが、2007 年 12 月～2008 年 2 月にかけて再び増加する季節変動を示した。年間を通してみると、各底質における脱窒菌群数は、平均約 1.3×10^3 cells/DG、平均約 9.3×10^2 cells/DG、平均約 6.7×10^3 cells/DG であり、満潮時の浅海域、満潮時の干潟域、干潮時の干潟域の順で増加している。また、満潮時の浅海域と干潟域における脱窒菌群の生息数に、大きな差異は見られなかった。

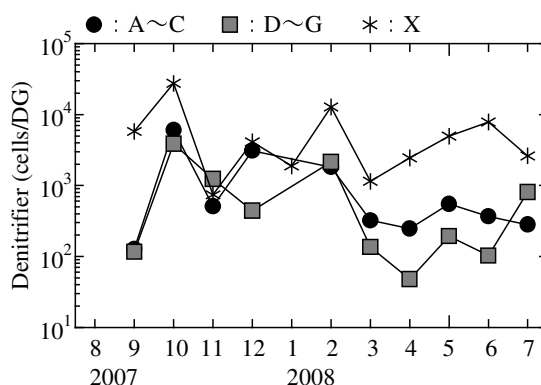


Fig. 4-2 地点 A～G 及び地点 X における底質の脱窒菌群数の季節変化

干潟域においては、干潮時に底質が干出することで、底質への酸素供給が急増し、細菌による有機物の分解が促進される¹²⁾。また、Höhener and Gächter (1994)¹³⁾ は、酸素

の供給によって硝化 ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$) 及び脱窒 ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$) の連結過程が促進されることを明らかにしている。これより、干潟域では、底質が干出することで、脱窒菌群数が急激に増大すると推測される。

4.3.2 底質環境の季節変化

Fig. 4-3 に、脱窒菌群の生息環境要素として重要な各地点の底質表面における温度と Eh の季節変化を示した。泥温は地点による差異はほとんどなく、2007年8月に約30.2℃と上昇した後、2008年2月(約6.3℃)に向けて下降し、その後再び増加する季節変動を示した。一方、Ehは、地点A～C及び地点D～Gともに2007年9月に最低値(約45mV)を示し、2008年1月に最大値(約300mV)を示した。地点Xにおいてもほぼ同様の季節変動が見られた。しかし、2008年2月以降においては、満潮時の底質のEhが200mV前後の値であったのに対し、約-100～170mVとその値は大きく変動した。また、冬季においては、全ての地点において200mV以上と高い値を示し、底質が酸化的環境にあることを示した¹⁴⁾。

Fig. 3-6 においては、泥温とEhは互いに相反する季節変動を示しており、地点XにおけるEhは2007年7月に増加が見られるが、概ね泥温の上昇に伴って減少する傾向が伺える。しかし、地点A～C及び地点D～GにおけるEhは、泥温が上昇する2008年2月以降も減少する傾向は見せなかった。バクテリアによる有機物分解の活性化は、底質の酸素消費量を

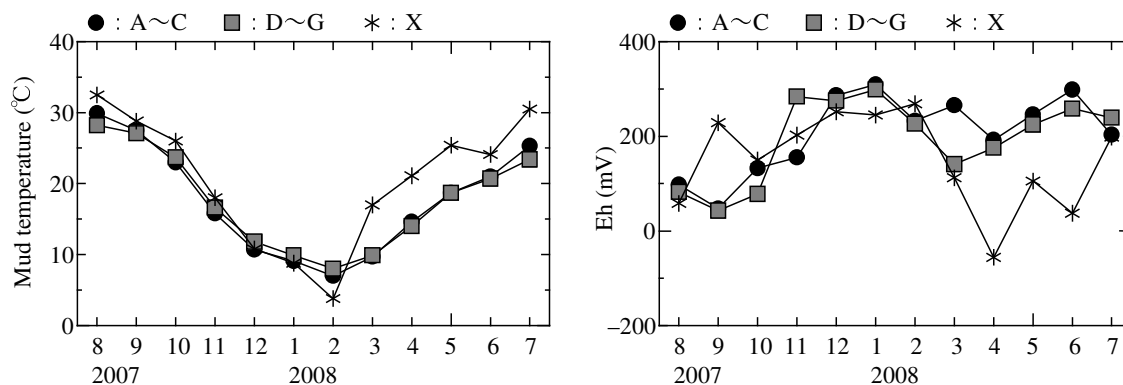


Fig. 4-3 地点A～G及び地点Xにおける底質の温度及びEhの季節変化

増大させ Eh を低下させる。したがって、満潮時の干潟域及び浅海域における底質は、酸素供給の制限に伴い、バクテリアによる有機物分解の不活性化を反映したものと考えられる。また、Fig. 4-2 の 2007 年 10 月における脱窒菌群数のピークは、泥温が約 23.0~26.0°C、Eh が約 78~150mV の範囲にあり、通性嫌気性細菌である脱窒菌群の生息及び活性に適した環境¹⁵⁾であったためと推察される。

Fig. 4-4 に、脱窒菌群の電子供与体となる各地点の底質表面における有機物 (Org.-C 及び Org.-N) 量の季節変化を示す。地点 A~C 及び地点 D~G における底質は、Org.-C 及び Org.-N とともに、それぞれ約 2.9~4.4% 及び約 0.3~0.6% の範囲にあり、大きな変動は見られなかったが、2007 年 8 月から 2008 年 2 月に向けて増加し、2008 年 4 月に減少した後再び増加する季節傾向を示した。一方、干潮時の干潟域における底質は、Org.-C 及び Org.-N とともに、2008 年 2 月に急増した後 2008 年 5 月に向けて減少した。

地点 A~C 及び地点 D~G における Org.-C 及び Org.-N の季節変化は、泥温の増減に伴う有機物分解の活性・不活性化を反映したものと考えられる。また、泥温が上昇するにも関わらず、2008 年 6 月、7 月において Org.-C 及び Org.-N の増加が見られる。これは、梅雨期による河川流量の増加によって、有機物の供給量とその分解量を上回ったためと推察される。地点 X において、2008 年 2 月~4 月にかけて Org.-C 及び Org.-N の増加が見られるのは、底質表面に繁茂した付着珪藻に起因するものと考えられる。

Fig. 4-5 に、脱窒菌群の電子受容体となる各地点の底質表面における無機態窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及び $\text{NO}_3^+\text{+NO}_2^-\text{-N}$) 濃度の季節変化を示す。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、地点 A~C では 2007 年 9 月以

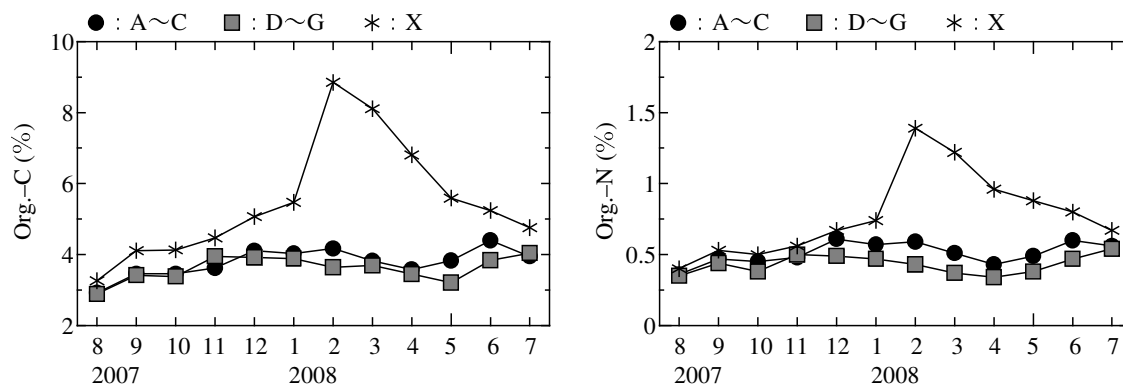


Fig. 4-4 地点 A~G 及び地点 X における底質の有機物量 (Org.-C, Org.-N) の季節変化

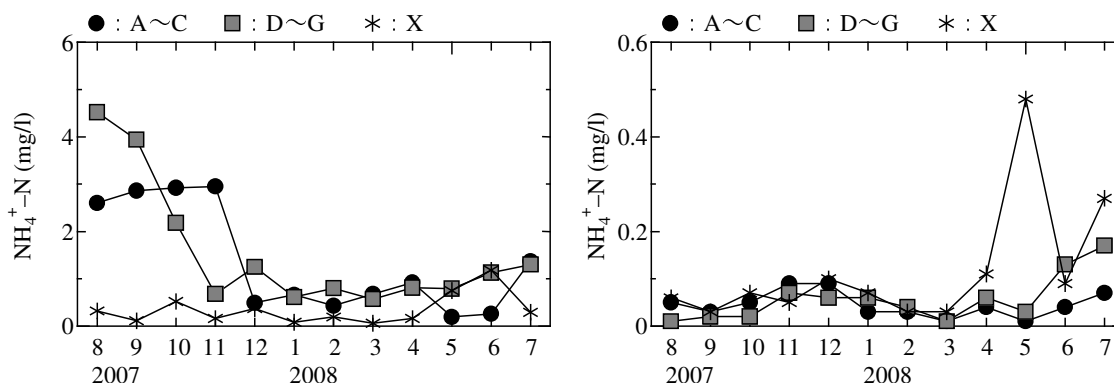


Fig. 4-5 地点A~G及び地点Xにおける底質間隙水中の無機態窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$) 濃度の季節変化

降に、地点D~Gでは2007年11月以降に減少し、2007年12月以降はその値に変動は見られなかった。また、地点Xにおいては、2008年6月に増加する傾向が見られたが、一般的にその値は低く大きな変動は見られなかった。一方、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、地点A~C及び地点D~Gにおいて $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度よりも1オーダー低い値を示し、2007年9月~2007年12月にかけて増加し、その後2008年3月に向けて減少した後再び増加する季節変動を示した。地点Xにおいて、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度が年間を通して低い値を示したのは、干出により底質表面への酸素供給が増進され、硝化作用が活性化されたためと考えられる。また、地点A~C及び地点D~Gにおいても海水中の溶存酸素により、底質表面へ酸素が供給されることから、硝化作用による $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の消費が起こっていたと考えられる。一方、2007年11月~2008年1月における $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、Fig. 4-3より底質のEhが200mV以上と酸化的環境であることから、硝化作用によって生成される $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 量が脱窒によって還元される $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 量を上回ったため、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ の蓄積が起こったと考えられる。また、2007年と2008年の夏季における $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及び $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ の濃度差は、河川などからの有機物供給量や気温の差異が反映したものと考えられる。

Fig. 4-2において、2007年10月における脱窒菌群数の増加は、Fig. 4-5の間隙水中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が低かったことから、脱窒作用が活性化されたためと考えられる。一方、泥温が低い冬季に脱窒菌群数が高い値を示した要因としては、Fig. 4-3より冬季のEhが約260mVと高かったこと、Fig. 4-5より $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が増加していたことから、脱窒(嫌

気呼吸)ではなく熱力学的に有利な酸素呼吸によって脱窒菌群が増殖したと考えられる¹⁵⁾。さらに、満潮時における干潟域と浅海域の脱窒菌群の生息数に大きな差は見られなかったが、冠水時と干出時における底質中の脱窒菌群の生息数は、年間を通して約 1 オーダーの違いが見られたことから、冠水と干出を繰り返す干潟域では、底質が周期的に好氣的及び嫌氣的環境になることで硝化及び脱窒作用が活性化し、干出することがない浅海域よりも脱窒菌が多く生息すると考えられる。したがって、脱窒菌による脱窒作用は、冠水と干出に伴って変化する底質の酸化還元状態に大きく左右されるといえる。

4.3.3 底質環境の鉛直プロファイル

海底堆積物中の栄養塩の動態は、海域の基礎生産を考える上で重要な因子である。そのため、栄養塩の動態を含む底質環境の鉛直プロファイルを検討した。Fig. 4-6 に、地点 A~C 及び地点 D~G, 地点 X における底質の Eh の各季節平均の鉛直分布を示す。Eh は、いずれの季節においても底質上層から下層に向けて緩やかに減少する分布傾向を示した。また、各季節における Eh は、それぞれ約-100~235mV, 約-90~200mV, 約-104~193mV, 約-25~276mV の範囲にあり、春季に低く冬季に高い傾向が見られた。さらに、冬季では、深さ 2cm 付近までは 200mV 以上の値を示した。また、地点 X を除いて、底質表面は 200mV 前後の

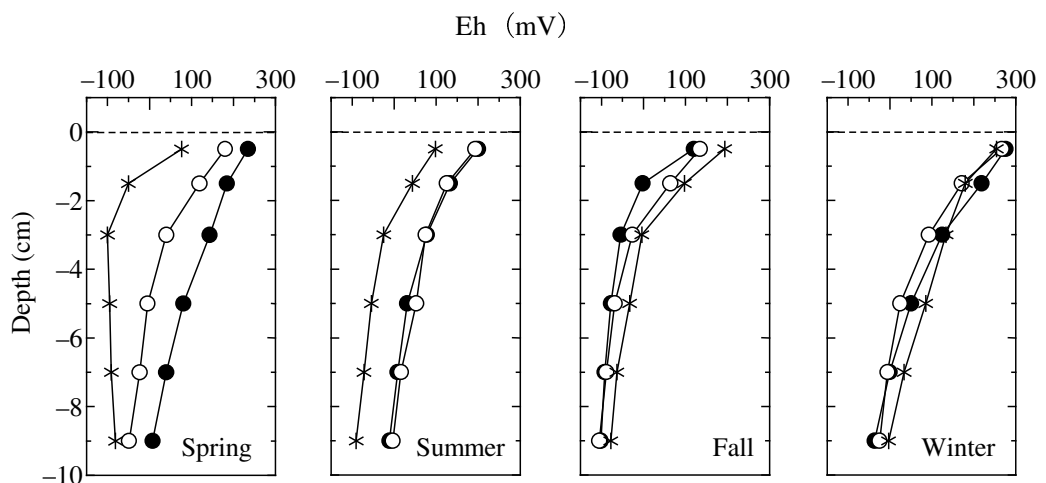


Fig. 4-6 底質中の Eh の鉛直分布 (● : 地点 A~C, ○ : 地点 D~G, * : 地点 X)

値を常に維持していた。これより、満潮時の干潟域及び浅海域における底質は、海水中の溶存酸素によって酸素が供給されると考えられる。したがって、底質表面では硝化及び脱窒作用が連結して起こる環境が形成されていると言える。

Fig. 4-7 及び **Fig. 4-8** に、地点 A~C 及び地点 D~G, 地点 X における底質の有機物量 (Org.-C) 及び C/N 比の各季節平均の鉛直分布を示す。Org.-C は、底質上層から下層に向けてほぼ一様な分布傾向を示し、各季節の平均はそれぞれ約 3.6%, 約 3.9%, 約 3.8%, 約 4.1% と冬季に高くなる傾向を示した。また、地点 A~C 及び地点 D~G と比較して地点 X は、やや高めの値を示し、春季及び冬季の底質表面 (深さ 0-1cm) において、約 6.1~6.8% と急

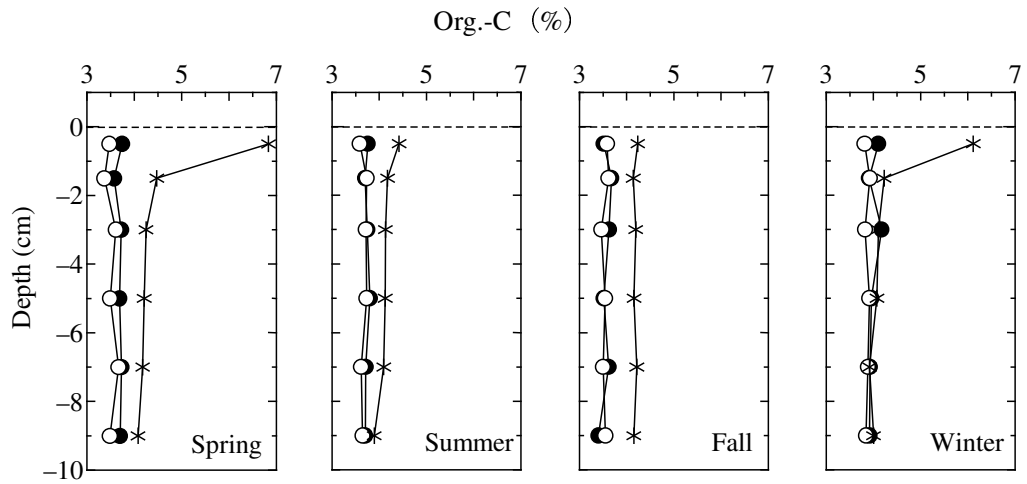


Fig. 4-7 底質中の Org.-C の鉛直分布 (● : 地点 A~C, ○ : 地点 D~G, * : 地点 X)

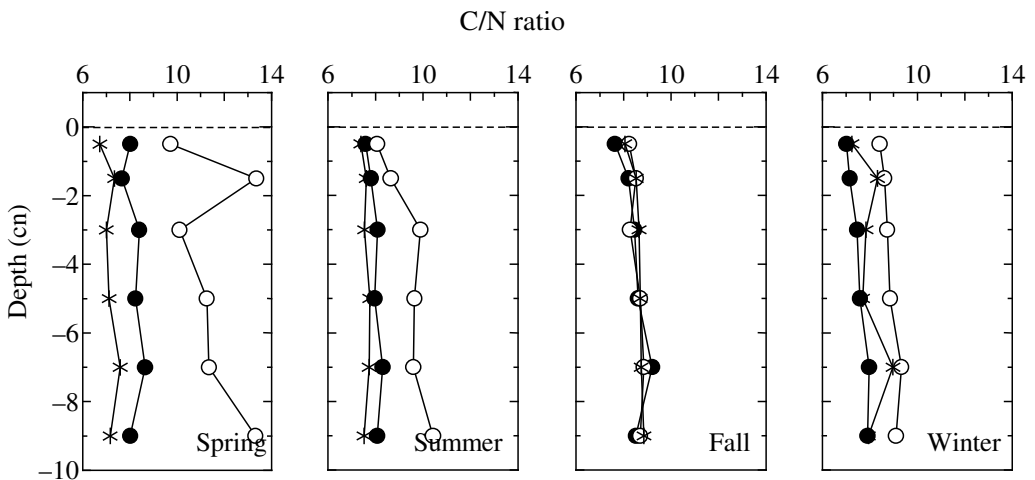


Fig. 4-8 底質中の C/N 比の鉛直分布 (● : 地点 A~C, ○ : 地点 D~G, * : 地点 X)

増える季節変動が見られた。これは、増殖した珪藻プランクトンの死骸が堆積したことや渦華と呼ばれる付着珪藻が繁茂したことに起因するものと考えられる。

干潟などの浅海域では、海面付近で生産された有機物が分解されないうちに海底面に堆積するため易分解性有機物が比較的多く、また底生生物が多いため、懸濁物食者による粒状有機物 (POM) の摂餌・排泄によって有機物の性状が変化する¹⁶⁾。このような難分解性と易分解性の構成比の情報は、底質中の有機物の C/N 比から得ることができる。例えば、植物プランクトン由来の有機物の C/N 比は 6~8 程度あり、C/N 比が 12 以上になると無機化が起こりにくいとされている^{16), 17)}。Fig. 4-8 において、地点 D~G の C/N 比が他地点よりも高くなる傾向が見られた。これは、浅海域である地点 D~G では、陸起源の有機物や海藻・海草などの大型植物由来の有機物供給により、干潟域よりも難分解性有機物が多いことが起因していると考えられる。また、2008 年 2 月においては、*Asterionella kariana* 及び *Skeletonema costatum* などによる赤潮が調査地点の西南付近で発生するなど¹⁸⁾、晩冬から春季にかけてプランクトンのブルームが生じている。したがって、春季における C/N 比の増加は、増殖したプランクトンの死骸の堆積が急増したことが大きく影響を及ぼしていると考えられる。

Fig. 4-9 及び Fig. 4-10 に、地点 A~C 及び地点 D~G、地点 X における底質直上水及び底質間隙水中の無機態窒素濃度 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$) の各季節平均の鉛直分布を示す。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、全般的に底質上層から下層に向けて増加する変動傾向を示した。また、各底質における季節変動の違いは春季を除いてほぼ見られず、各季節の値はそれぞれ約 0.06~18.07mg/l, 約 0.20~11.76mg/l, 約 0.18~10.63mg/l, 約 0.12~8.69mg/l の範囲にあり、春季に高く冬季に低い季節傾向を示した。一方、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度と比較して約 2 オーダー低い値を示し、全般的に底質上層から下層に向けて減少するという $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度とは逆の変動傾向を示した。各季節の値はそれぞれ約 0.01~0.21mg/l, 約 0.05~0.16mg/l, 約 0.02~0.22mg/l, 約 0.01~0.25mg/l の範囲にあり、夏季に高く、秋季及び冬季に低い季節傾向を示した。また、各底質における分布の違いは、春季における干潮時の干潟を除いてほとんど見られなかった。

有機物が分解・無機化されるアンモニア生成によって、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、通常、底質表面

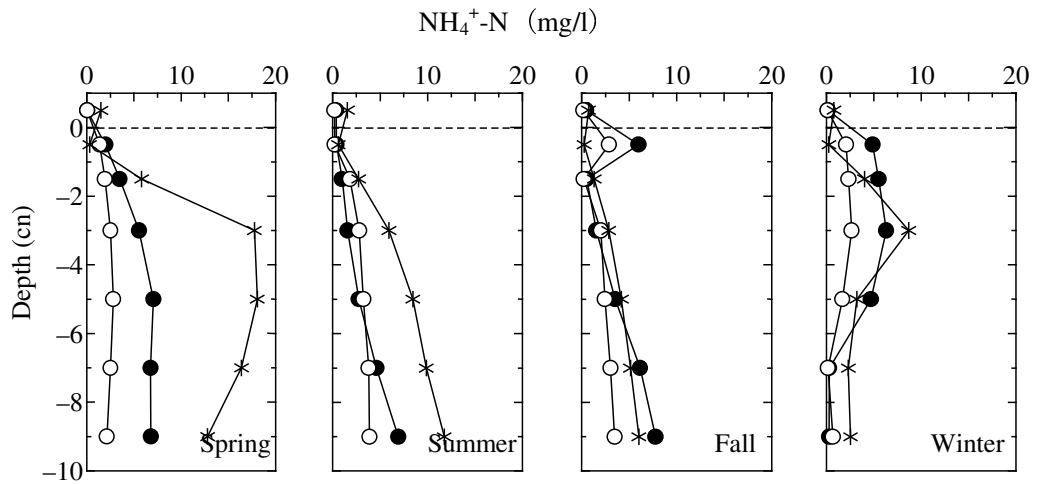


Fig. 4-9 底質中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の鉛直分布 (● : 地点 A~C, ○ : 地点 D~G, * : 地点 X)

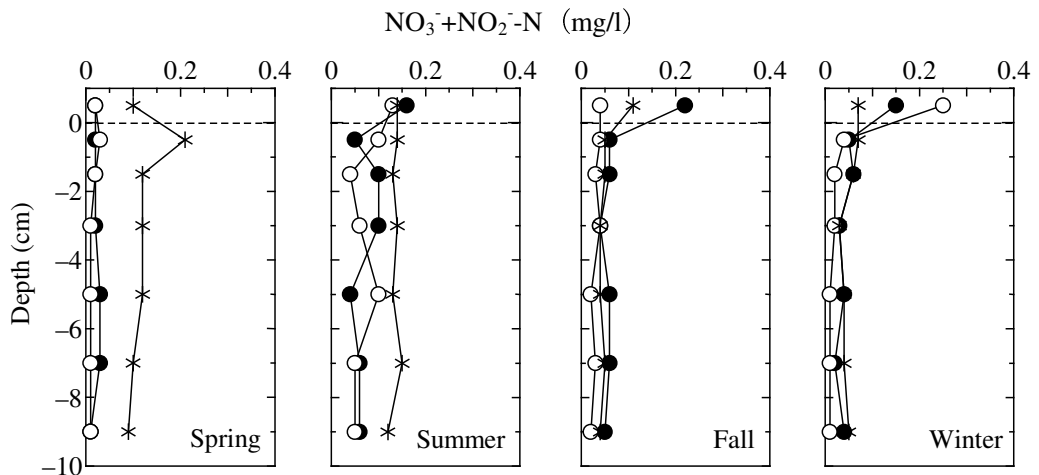


Fig. 4-10 底質中の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- \text{-N}$ 濃度の鉛直分布 (● : 地点 A~C, ○ : 地点 D~G, * : 地点 X)

へ向かって減少し、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ は濃度勾配に沿って上方に拡散する¹⁹⁾。春季の地点 X において、深さ 2cm 以深で $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の急増が見られたが、これは、C/N 比が全層を通して約 7.2 と低いこと (Fig. 4-8)、また Eh が深さ 2cm 以深より -80mV 前後と底質が還元的環境にあること (Fig. 4-6) から、有機物の分解・無機化作用が活性化されているにも関わらず、硝化作用が抑制されている可能性が考えられる。したがって、底質中における $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の蓄積量が増すことで濃度が上昇したと考えられる。一方、 $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- \text{-N}$ 濃度は、通常、硝化作用による生成及び海水からの取り込みに依存しており、底質上層付近における濃度が高い。本観

測においても、春季を除く季節においては、直上水の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度は間隙水のそれと比較して約 2.5 倍と高く、底質中における $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ の取り込みが伺われる。また、 $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ は脱窒作用により N_2 に還元される。すなわち、脱窒菌群数が多く Eh が -78 ~ 194mV の範囲であった秋季においては、硝化及び脱窒作用の連結により、底質中の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 及び $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度が減少したものと推察される。また、冬季における $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度減少は、Eh が -37 ~ 276mV の範囲であり、底質上層の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度が高いことから、脱窒作用による $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ の消費ではないと言える。すなわち、泥温の低下に伴うバクテリアの活性が低下したことで、硝化による $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ の生成が抑制されたためと考えられる。したがって、 $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度の消長は、一概的に脱窒作用に反映されるものではないと考えられる。

有明海奥部における満潮時の干潟域及び浅海域では、堆積した底質中の有機物の種類や性状を除き、明確な差異は見られなかった。しかし、満潮時及び干潮時の干潟域では、底質表層における脱窒菌群数をはじめ、各季節における底質環境の鉛直分布に差異が見られた。千賀と渡辺 (2009) ¹²⁾ は、汚濁池沼の水質改善を目的とした水槽実験により、窒素浄化には連続的な空気供給ではなく間隔を取った供給、あるいは底質中において酸化的環境と還元的環境を時空間的に組み合わせる必要性を述べている。すなわち、干潟域において、周期的に繰り返される干出及び冠水は、底質の酸化還元状態を大きく変化させ、有機物の分解及び硝化及び脱窒作用などの一連の過程が連結して、また複雑に絡み合って、底質中の窒素浄化が促進されると考えられる。

4.4 結論

本章では、有明海奥部干潟域及び浅海域において、脱窒作用を担う脱窒菌群の生息分布や底質環境について、調査及び実験データに基づき、検討、考察した。その結果、明らかになった知見を要約すると次のようになる。

- 1) 底質表層（表面～1cm）において、地点 A～C 及び地点 D～G における脱窒菌群の生息数に大きな差異は見られなかったが、地点 A～C と地点 X における脱窒菌群数は、年間を通して約 1 オーダーの違いが見られた。すなわち、脱窒菌群は、底質の干出後、速やかに増殖するものと考えられた。
- 2) 地点 X における底質表面の Eh と泥温は互いに相反する季節変動を示したが、地点 A～C 及び地点 D～G における Eh は泥温が上昇する 2008 年 2 月以降も減少する傾向は見せなかった。これは、地点 A～C 及び地点 D～G における底質は、満潮による酸素供給の制限に伴い、バクテリアによる有機物分解が不活性化したことを反映したと考えられた。
- 3) 底質表面の Org.-C 及び Org.-N の季節変化は、ほぼ同様の季節変動を示し、冬季及び 6～7 月に増加した。これは、それぞれ泥温の増減に伴う有機物分解の活性・不活性化及び梅雨期の河川流量の増加による有機物の供給量増大によるものと推察された。
- 4) 地点 A～C 及び地点 D～G における間隙水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、冬季に向けて減少後ほぼ一定の値を維持した。また、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、地点 X では年間を通して 1.0mg/l 以下の低い値であった。一方、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、地点 A～C 及び地点 D～G において $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度よりも 2 オーダー低い値を示し、冬季に増加した後減少した。しかし、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、2008 年 3 月に再び増加する季節変動を示した。
- 5) 鉛直プロファイルにおいて、Eh はいずれの季節も底質上層から下層に向けて緩やかに

減少したが、その変動は大きかった（約 240mV）。地点 X を除く Org.-C は、底質上層から下層に向けてほぼ一様な分布傾向を示し、冬季に増加する季節傾向を示した。また、C/N 比は、地点 D~G において他地点よりも高い値を示し、浅海域における有機物の起源が主に陸域由来であることが推察された。

- 6) 間隙水中における $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、概ね底質上層から下層に向けて増加し、春季に高く冬季に低い季節傾向を示した。一方、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、全般的に底質上層から下層に向けて減少する、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度とは逆の分布傾向を示した。これらの濃度の増減は、硝化及び脱窒作用の活性化に影響を及ぼすと推察された。
- 7) 干潟域では、底質が定期的に好氣的及び嫌氣的環境になることで、硝化及び脱窒作用が活性化され、窒素浄化を含む有明海域の環境浄化に大きく寄与していることが推察された。

第5章 泥質干潟域における脱窒菌群数の分布と脱窒速度

5.1 緒論

内湾沿岸域において、陸域由来や植物プランクトンなどの海域由来のデトリタスは、海水-堆積物の境界層（海底境界層）において高濃度に蓄積・濃縮され、その90%以上がベントス群集や微生物群集によって分解・無機化されている¹⁾。また、堆積物からの栄養塩類の溶出は、河川水の流入と並んで富栄養化に寄与する要因となっている。そのため、海底境界層における栄養塩類などの物質のフラックスは、沿岸域における水環境及び生態系などにおいて重要なファクターである²⁾。しかし、海底境界層の物理的・生化学的要因が栄養塩類の代謝・溶出過程に与える影響や海底境界層における有機物の分解・無機化に関わる微生物群集の種類や活性などについては、いまだ不明な点が多い。

有明海は閉鎖性内湾で、面積約200km²の広大な干潟を有する。また、大量の微細土粒子やデトリタスが沈殿と再懸濁を繰り返すため、浮泥が海域奥部を中心に高濃度で存在しており、多量の栄養塩が吸着されている³⁾。

近年、この海域において、二枚貝類の漁獲量の激減、赤潮発生の頻発化、貧酸素水塊発生の顕在化など環境悪化が急速に進んでおり⁴⁾、その原因解明と海域環境の再生について様々な研究が行われている^{5)~7)}。このような状況の中で、干潟の持つ、富栄養化の低減すなわち窒素・リンの除去といった環境浄化機能に寄せる期待は大きい。特に、窒素収支において、総窒素除去量の約20%を占める脱窒作用⁸⁾に注目が集まっている（**Fig.5-1**）。しかし、干潟域における脱窒活性と底質環境との関連性については、必ずしも十分に究明されているとはいえない。

また、既存の干潟の研究には、広島湾における干潟の水質浄化能⁹⁾や有機物分解能¹⁰⁾、人工干潟における浄化能^{11)~13)}、一色干潟における水質浄化機能¹⁴⁾などの浄化能の評価を

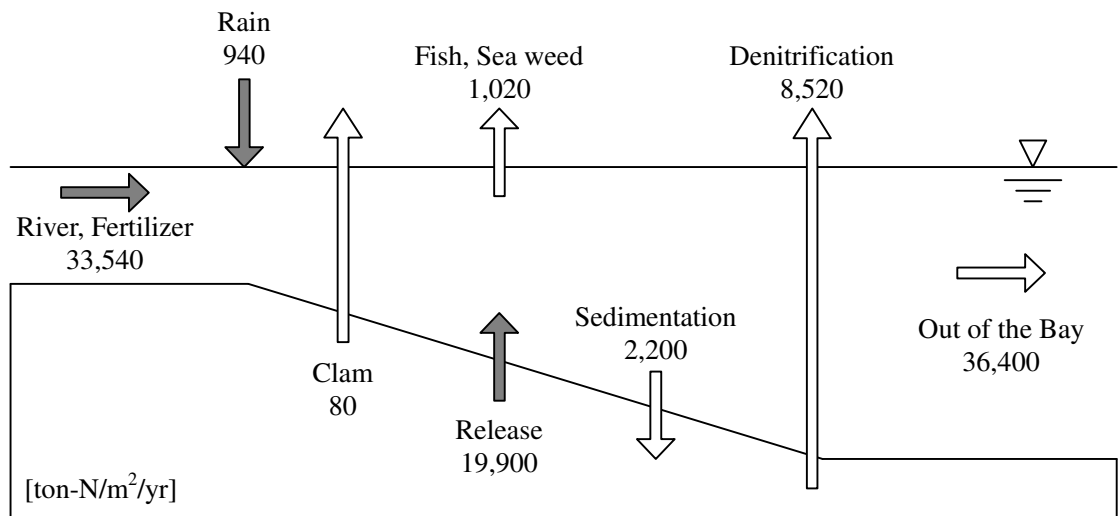


Fig. 5-1 有明海における 1999 年の窒素収支⁸⁾

はじめ、和白干潟や播磨灘、瀬戸内海などにおける栄養塩フラックス^{15)~17)}、などの栄養塩動態について様々な研究が行われている。しかし、これらの研究対象は、砂質及び砂泥質干潟におけるものが多く、泥質干潟を対象としたものは少ない。そのため、泥質干潟における環境浄化機能や物質循環の特性などについては、十分に解明されていない。したがって、有明海域全体の物理、生化学的環境や生物生産過程を視野に入れた総合的な環境対策を検討するためには、有明海の特徴的な干潟である海域奥部に発達した泥質干潟において、その底質における脱窒特性、さらには底質中の窒素循環メカニズムの究明が必要であると考えられる。

本章では、干潟域底質の窒素循環メカニズムの解明を前提に、有明海奥部の広域的な脱窒菌群数の分布性や泥質干潟の脱窒活性とその環境因子を明らかにすることを目的と、特に脱窒菌群数の生息分布及び脱窒速度の季節推移やそれらと底質環境との関連性などについて、調査及び実験データを基に検討、考察した。さらに、脱窒菌群数及び底質環境の鉛直プロファイルから、底質中の溶存物質移動が及ぼす脱窒作用への影響についても検討を行った。

5.2 実験概要

本章の実験に際して設定した，有明海奥部干潟域の調査及び底質の採取地点 X（佐賀県佐賀市東与賀海岸）を Fig. 5-2 に示した．この地点は，Fig. 3-1 の地点⑨及び Fig. 4-1 の地点 X と同じであり，泥質の干潟に位置する．

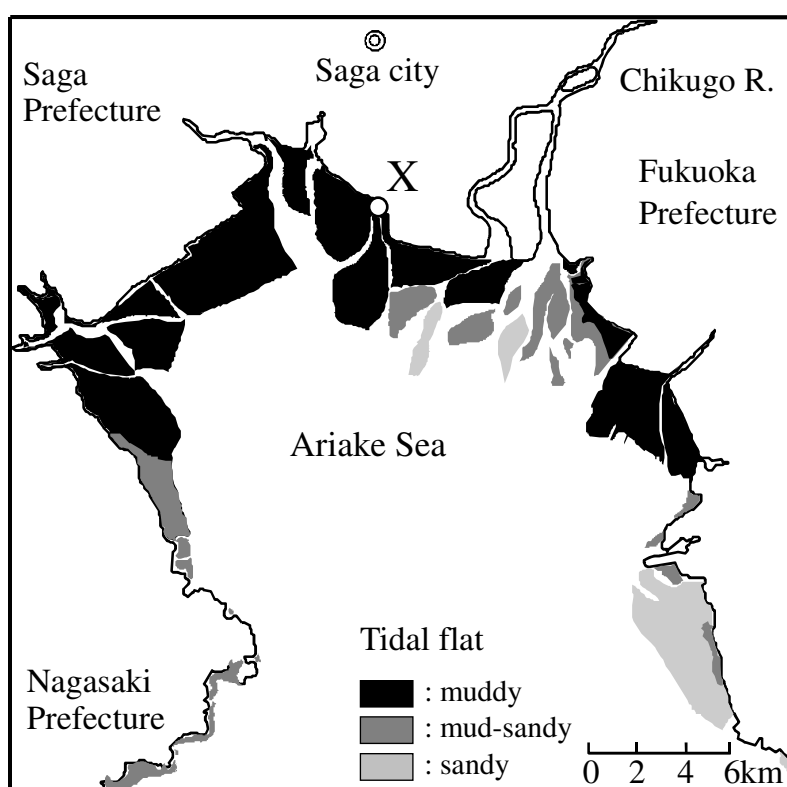


Fig. 5-2 調査及び底質の採取地点

奥部に広く分布する最も典型的な干潟である泥質干潟における干潮時の脱窒菌群数の鉛直分布性及びその季節推移と底質環境との関連性を検討するため，2006年4月～2008年3月に，地点 X において各月2回の現地観測とコアサンプル（内径 83mm，長さ 210mm）による底質の採取を行った．採取試料については，表面から深さ 10cm まで 2cm 間隔にスライスカットした底質を用い，実験室で脱窒菌群数の計測と底質及び間隙水の化学分析を行った．また，表面から深さ 10cm までの底質における脱窒速度及び無機態窒素フラックス速度

の測定を行った。

現地では、温度と ORP メータによる酸化還元電位 (Eh) を測定した。また、脱窒菌群数は Giltay 培地を用いて 30°C で 7 日間培養した後、MPN 法¹⁸⁾ に基づき算出した。底質については、含泥 (粘土+シルト) 率及び、CHN コーダ (JM-10, J-Science LAB) を用いて有機態炭素 (Org.-C) と有機態窒素 (Org.-N) を定量分析した。底質直上水及び底質試料を遠心分離 (4,000rpm, 10min) して採取した底質間隙水については、メンブランフィルター (0.45µm) でろ過し、冷凍保存した。後日解凍した試料について、オートアナライザー (SWATT, BL TEC) を用いて $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-\text{-N}$ を定量分析した。

脱窒速度は、アセチレン阻害法^{19), 20)} で測定した。すなわち、採取した未攪乱のコア試料にアセチレンを飽和させたら過海水 100ml をコア試料内部及び直上に注入し、現地温度に設定したインキュベータで 24 時間培養した後、コア試料上のヘッドスペース中の気体を採取してガスクロマトグラフィー (G2700, Yanako) で N_2O 濃度を測定した。そして、 N_2O 濃度の測定値から、(2.1) 式により単位面積当たりの脱窒速度 R_d (mg-N/m²/d) を求めた。

底質直上水-底質間の無機態窒素フラックス速度は、信澤ら (2005)²¹⁾ 及び Welsh et al. (2000)²²⁾ の方法にならい、測定を行った。すなわち、未攪乱で採取したコア試料上部をろ過した底質直上水で満たし、現地温度で培養した底質直上水中の無機態窒素濃度の季節変化から、(2.4) 式により単位面積当たりのフラックス速度 F (mg-N/m²/d) を算出した。

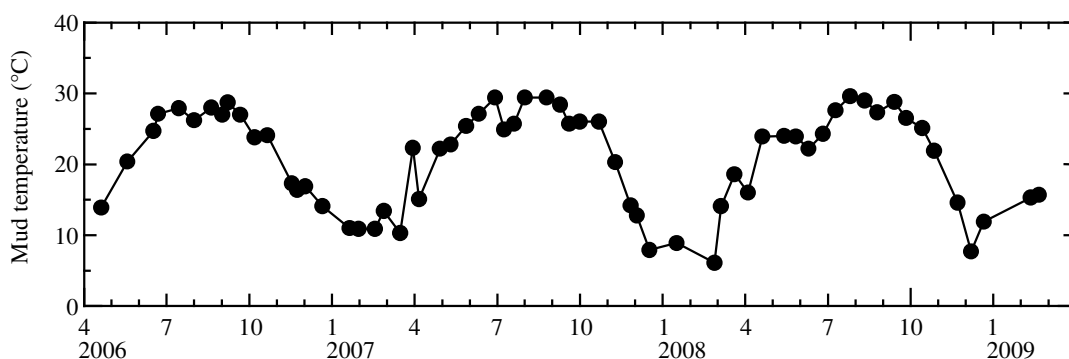


Fig. 5-4 地点 X の底質中の泥温（深さ 0~10cm の平均値）の経時変化

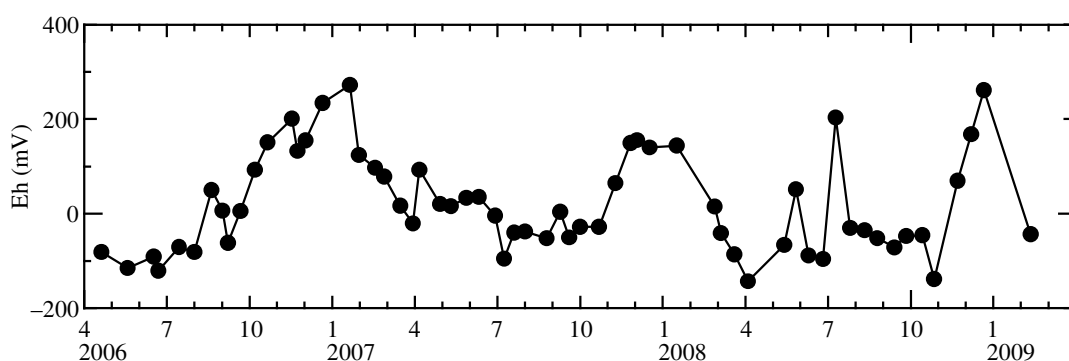


Fig. 5-5 地点 X の底質中の Eh（深さ 0~10cm の平均値）の経時変化

動を示した。

また、泥温と Eh は、互いに相反する経時変化を示した。これは、泥温の上昇する夏季に、底質中の有機物の好氣的分解が進行し、酸素消費量が増大することで底質中が嫌氣的状態となったためと考えられる。一方、泥温の低下する冬季には、底質中の有機物の好氣的分解が低下し、酸素消費量が減少することで底質中が好氣的状態になったためと考えられる。

Tian et al. (2004)²³⁾ は、土壤微生物の分布が土壤温度と有意な相関性にあることを明らかにしている。したがって、Fig. 5-3 で、夏季において脱窒菌群数が増加した要因としては、泥温が上昇したこと、さらには梅雨期や台風時の出水による底質中の有機物量が増加したことが考えられる。上原と高井 (1983)²⁴⁾ は、脱窒菌群は、例外的なものを除き、脱窒菌群が本来好氣性の従属栄養生物であることから、嫌氣的条件下よりも好氣条件下での増殖の方がより早いとしている。これより、各年の冬季にも脱窒菌群数の増加が見られた要因の一つとして、通性嫌氣性細菌である脱窒菌群が底質表層の好氣化に伴い、熱力学的に脱

窒（嫌気呼吸）よりも有利な酸素呼吸²⁵⁾を行い、増殖したためではないかと推察される。

5.3.2 底質中の有機物量及び底質間隙水中の無機態窒素濃度の季節変化

従属栄養生物である脱窒菌群は、エネルギー源及び炭素源として、体外から取り入れた有機物を利用して増殖する²⁵⁾。そこで、脱窒菌群の電子供与体となる有機物量の季節変化について検討した。Fig. 5-6 及び Fig. 5-7 に、地点 X における干潟表面から深さ 10cm までの底質中の有機物量 (Org.-C, Org.-N) の経時変化を示す。Org.-C 及び Org.-N は、それぞれ約 2.1~5.1%、約 0.2~0.8% の範囲で変動し、2006 年 6 月及び 2007 年 7 月、2008 年 8 月など概ね夏季に減少する季節変化を示した。2007 年及び 2008 年では夏季における減少後、急増する傾向が見られ、各年の冬季においても増加する傾向が見られた。また、Org.-C 及び

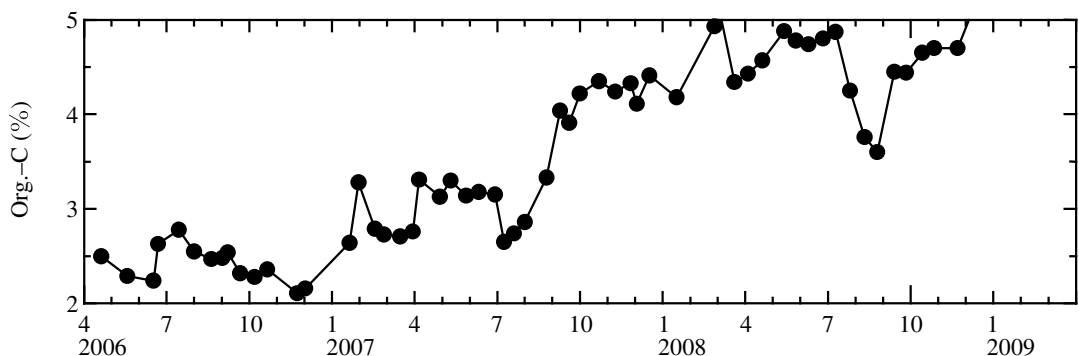


Fig. 5-6 地点 X の底質中の Org.-C (深さ 0~10cm の平均値) の経時変化

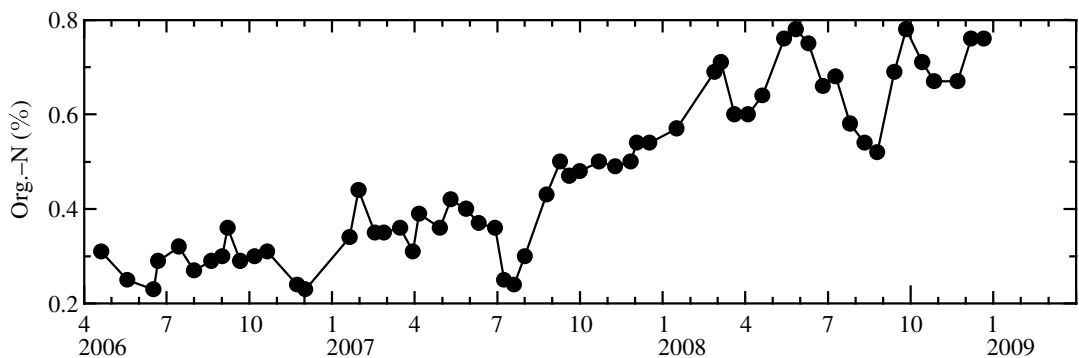


Fig. 5-7 地点 X の底質中の Org.-N (深さ 0~10cm の平均値) の経時変化

Org.-N の増減は対応しており、全体的に多少の増減を繰り返しながら、年々増加する傾向を示した。

各年の夏季における Org.-C 及び Org.-N の減少は、細菌による有機物の分解・無機化が泥温の上昇に伴って促進されたためと考えられる。また、泥温が高いにも関わらず、夏季から初秋にかけて有機物が増加したのは、河川などからの有機物の供給量が細菌による分解量を上回ったためと考えられる。また、冬季における増加は、泥温の低下に伴う細菌による有機物の分解・無機化が衰退したこと、また、ノリ養殖期（10月下旬～3月上旬）に有機物質が干潟に集積し、底質中の有機物量が増加したことによるものと考えられる。

沿岸域における有機物の主な供給源は、河川による流入、あるいは植物プランクトンや動物プランクトンなどの蓄積によるものである。水生生態系において、C/N 比は有機物の優位的な供給源の指標として用いられ、有機物の性状やその分解の状態によって大きく影響を受ける^{26)~29)}。例えば、水中を沈降する植物プランクトンなどに由来する有機物の C/N 比は 6~8 程度で、堆積物中では易分解性有機物から難分解性有機物に変化することで、その値が大きくなるとされている³⁰⁾。また、有明海奥部域において、河川流入量の約 74% を占める³¹⁾ 筑後川は、陸域からの有機物の供給に多大な影響を与えていると考えられる。そこで、有機物の性状や分解の状態及び有機物と河川流量との関連性を検討するため、**Fig. 5-8** 及び **Fig. 5-9** に、干潟表面から深さ 10cm までの底質中の C/N 比と筑後川流量（観測点：筑後川大堰直下）³²⁾ の経時変化を示す。C/N 比の季節変化は各年によって異なり、その値は約 5.7~11.5 の範囲で変動した。また、2006 年及び 2007 年においては、それぞれ約 9.6 及び約 11.5 と夏季に増加し、その後、秋季に 7.5 前後まで急減した。2008 年においては、夏季に明確な増加は見られなかったが、前年までと同様、秋季に約 5.7 まで減少した。一方、筑後川の河川流量は梅雨期である 6 月と 7 月に急増し、この時期における各年の総流量は、年間総流量の約 44.5%、約 47.4%、約 38.7% と比較的高い割合を示した。

筑後川流量と C/N 比との対比より、夏季における C/N 比の増加は、河川によって搬入された有機物量の増加が影響しているのではないかと推察される。また、晩夏から秋季にかけての C/N 比の急減は、泥温の上昇に伴って底質中の有機物の分解・無機化が促進された

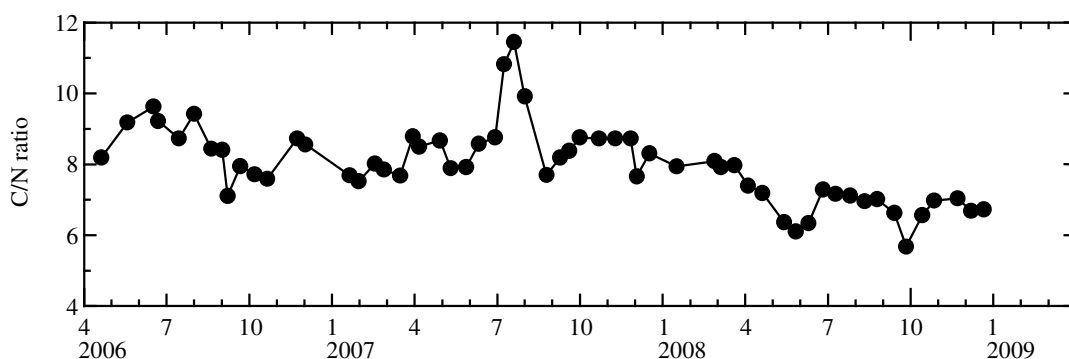


Fig. 5-8 地点 X の底質中の C/N 比（深さ 0~10cm の平均値）の経時変化

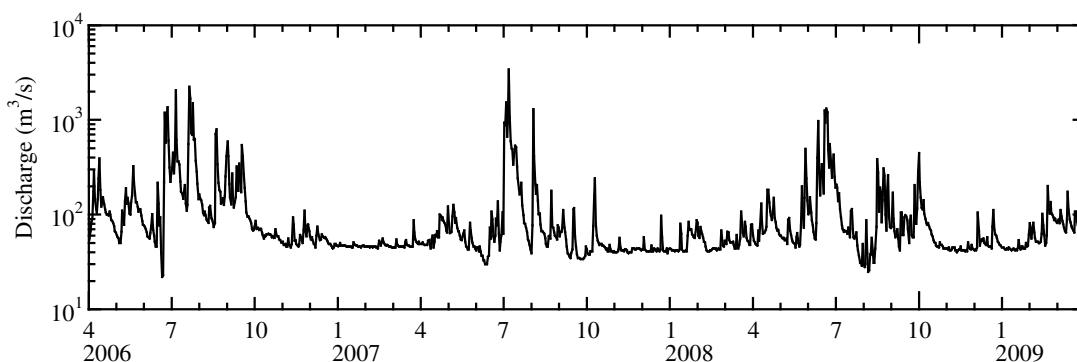


Fig. 5-9 筑後川流量の経時変化

ためによるものと思われる。さらに、夏季における C/N 比の増加は、河川流量の増加により、底質に堆積している有機物が難分解性有機物を含む陸域由来であることを示唆している³⁰⁾。一方、冬季から春季における C/N 比の減少は、有機物の供給源が付着藻類や増殖した珪藻プランクトンの死骸など、易分解性有機物を含む海域由来であることが考えられる³⁰⁾。脱窒菌群数は、易分解性有機物を電子供与体とする脱窒作用に関与している細菌の活動を反映する³³⁾ ことから、Fig. 5-3 の脱窒菌群数の増減は、有機物量に大きく影響されたものと推察される。

通性嫌気性細菌である脱窒菌群は、好氣的条件下では酸素呼吸を行い、嫌氣的条件下では、最終電子受容体として NO_3^- 及び他の酸化態窒素を用いて硝酸呼吸を行う。脱窒は硝酸呼吸の一形式であり、 $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ と連続的に進行する異化的硝酸還元反応を指す²⁵⁾。そこで、脱窒菌群の電子受容体となる窒素酸化物を含む DIN 濃度の季節変化について検討した。Fig. 5-10 及び Fig. 5-11 に、地点 X における干潟表面から深さ 10cm

までの底質間隙水中の DIN ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$) 濃度の経時変化を示した。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及び $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度の季節変化は各年によって異なり、それぞれ約 0.2~17.9mg/l、約 0.01~0.31mg/l の範囲で変動した。また、2008 年においては 2006 年及び 2007 年と比較して約 2~3 倍高い値を示した。

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、2006 年及び 2007 年においては、春季から夏季にかけて 7mg/l 前後まで増加した後、冬季には 0.2mg/l 前後まで大きく減少した。2008 年においては、2 月から 5 月にかけて約 17.9mg/l まで増加し、その後 6 月~7 月に一時的な減少を見せるなど、前年までとは大きく異なる変動傾向を示した。また、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の季節変化は、有機物量のそれと少し時期をずらしてほぼ対応する傾向を示した。

一方、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、2006 年及び 2007 年において、平均約 0.04mg/l と年間を通して全般的に低く、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度のような明確な季節変化を示さなかった。2008 年においては、6 月~7 月の一時的な減少を除くと、3 月から 8 月にかけて約 0.80~0.31mg/l まで増加し、

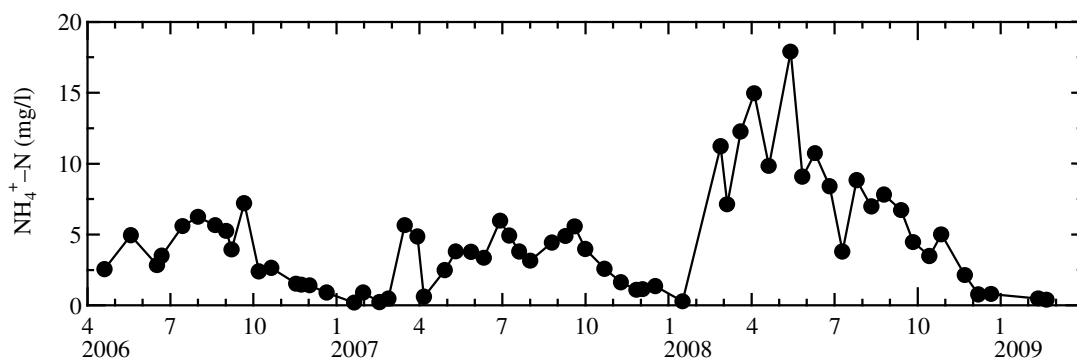


Fig. 5-10 地点 X の間隙水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度（深さ 0~10cm の平均値）の経時変化

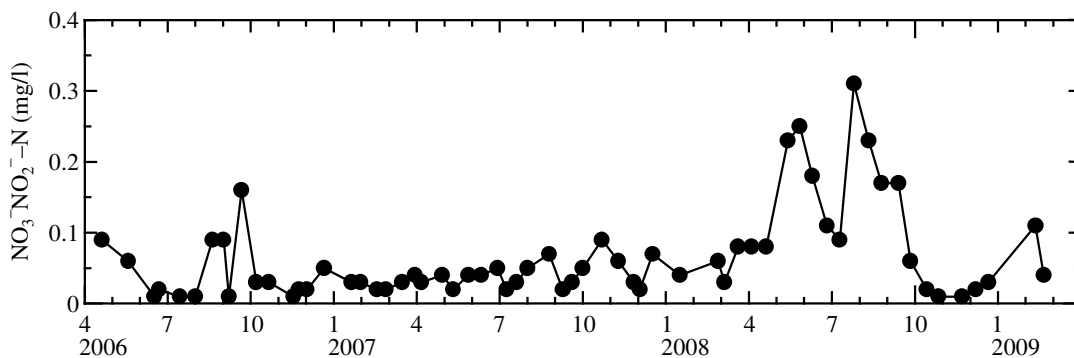


Fig. 5-11 地点 X の間隙水中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度（深さ 0~10cm の平均値）の経時変化

その後冬季に向けて減少する変動を示した。また、2008年6月～7月における一時的な減少は、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度のそれと対応しているように伺える。

このような $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及び $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度の経時変化は、底質中の有機物の分解作用や硝化及び脱窒作用が深く関与したためと推察される。すなわち、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の増加及び減少は、**Fig. 5-4**に示された泥温の経時変化との対比より、それぞれ泥温の上昇に伴う有機物の分解作用の活性化及び泥温の低下に伴う分解作用の不活性化を反映したと考えられる。2008年において、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の増加が前年よりも早まったのは、泥温の上昇が早まっていることに起因するものと考えられる。また、2008年を除いて、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が年間を通じ全般的に低い値を示したのは、底質中での硝化作用による $\text{NH}_4^+\text{-N}$ から $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ の生成量や海水中から底質への $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ の取込量に比べて、脱窒作用による $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ の還元量が比較的多かったためと推察される。さらに、2008年において、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が前年までよりも高くなったのは、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の急増に呼応したと考えられる。

有機物含有量が高い泥質の底質では、一般的に直上水から底質へ $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ が取り込まれ、逆に底質から $\text{NH}_4^+\text{-N}$ が溶出する現象が見られる³⁴⁾。そのため、本研究の調査地点において、直上水中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度の変動は、脱窒活性を左右する重要な要素と考えられる。そこで、底質直上水中におけるDINの経時変化について検討した。**Fig. 5-12**及び**Fig. 5-13**に、底質直上水中のDIN($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$)濃度の経時変化を示す。直上水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、夏季に3.5mg/l前後に増加し、10月から12月にかけて0.5mg/l前後に減少する変動を示し、各年の2月前後に一時的な増加を見せた。このように、直上水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、間隙水中のそれと比較して低い値を示したが、ほぼ同様の経時変化を示した(**Fig. 5-10**)。一方、直上水中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、約0.01～0.71mg/lの範囲で変動し、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ のような明確な経時変化は見られず、間隙水中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度とも対応していなかった。また、その濃度は、間隙水中のそれと比較してやや高くなる傾向を示した。

直上水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の変動は、底質中の有機物の分解によって増減した間隙水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の溶出の変動と密接に関連しているものと推察される。また、2008年において、間隙水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度が急増したにも関わらず、その変動が直上水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度に反映されていない。これは、**Fig. 5-5**に示されたこの時期におけるEhが例年と比較して高かつ

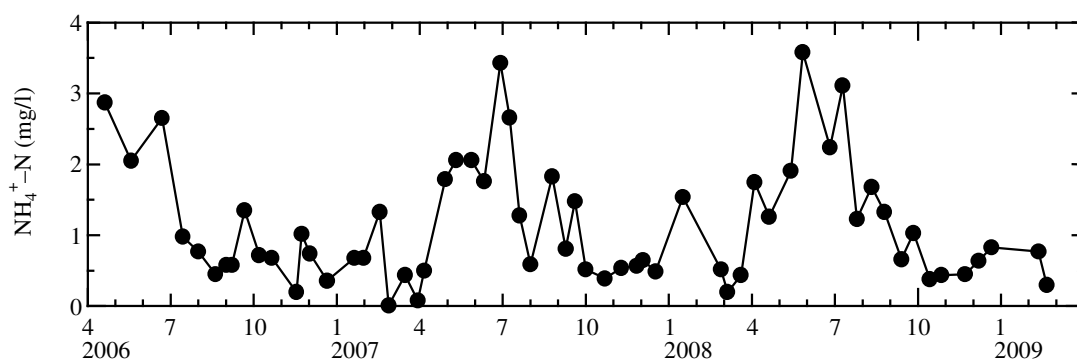


Fig. 5-12 地点 X の海水中の NH₄⁺-N 濃度の季節変化

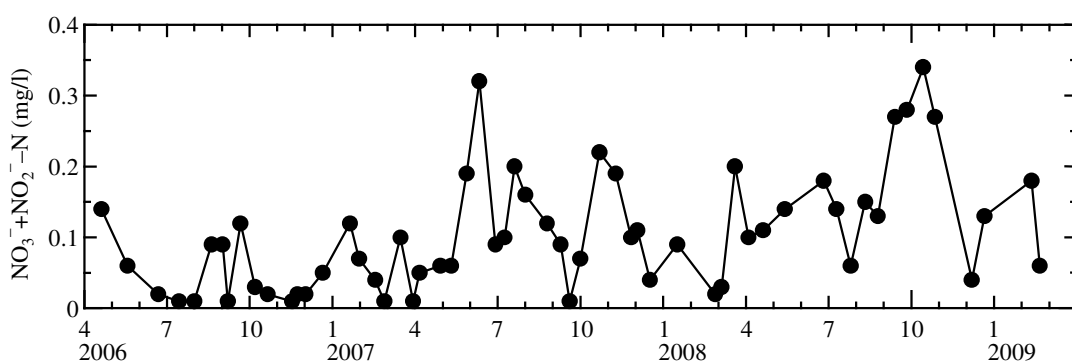


Fig. 5-13 地点 X の海水中の NO₃⁻+NO₂⁻-N 濃度の経時変化

たこと、Fig. 5-10 に示された NO₃⁻+NO₂⁻-N 濃度が増加していることから、濃度勾配による溶出よりも硝化による NO₃⁻+NO₂⁻-N への酸化が卓越していたためと考えられる。

一方、直上水中の NO₃⁻+NO₂⁻-N 濃度は、間隙水中のそれと比較してやや高く、季節変動が異なっていたため、両者の関係について検討したところ、両者には相関性がほとんど見られなかった (Fig. 5-14)。これは NO₃⁻ 及び NO₂⁻ の生成場及び生成過程の違いを反映したと推察される。泥質干潟では、砂質干潟のように干満に伴う海水の底質中への浸透・排出はほとんど見られず、間隙水中の物質移動は基本的に直上水-間隙水間の濃度勾配に基づく拡散に依存していると考えられている³⁵⁾ ことから、底質表層部においては、硝化作用による NH₄⁺ の酸化によって NO₃⁻ 及び NO₂⁻ の生成が広く起こっているが、底質内部においては硝化作用が抑制されるため、主に直上水から底質への拡散に依存しており、また脱窒作用によって速やかに消費されたと考えられる。

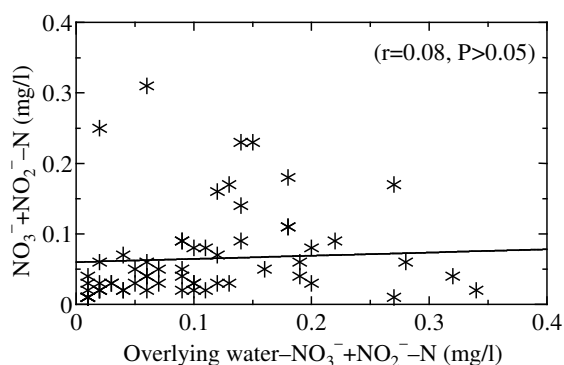


Fig. 5-14 地点 X の間隙水中と直上水中における $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度の関係

5.3.3 脱窒速度と脱窒菌群数との関係

脱窒は、水中や土壌において窒素を系外へ除去する経路として、窒素循環に大きな役割を果たす。したがって、干潟の環境浄化を考える上で、非常に重要なファクターである。そこで、脱窒速度の経時変化について検討した。Fig. 5-15 及び Fig. 5-16 に、泥質干潟に位置する地点 X における干潟表面から深さ 10cm までの底質の脱窒速度の経時変化及び脱窒速度と脱窒菌群数の関係を示す。なお、2006 年 11 月～2007 年 1 月の脱窒速度は、欠測のため表示されていない。脱窒速度は $0.35 \sim 13.86 \text{mg-N/m}^2/\text{d}$ の範囲にあり、その変動は大きく、各年によって異なった。2006 年 10 月, 2007 年 7 月, 2008 年 10 月に、それぞれ $8.61 \text{mg-N/m}^2/\text{d}$, $13.86 \text{mg-N/m}^2/\text{d}$, $7.52 \text{mg-N/m}^2/\text{d}$ とピークを示し、概ね夏季から秋季にかけて増加し、冬季

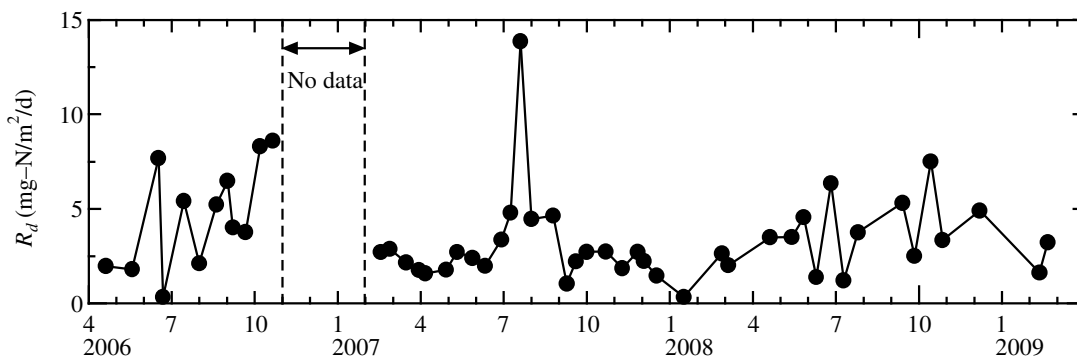


Fig. 5-15 地点 X の底質中の脱窒速度の経時変化

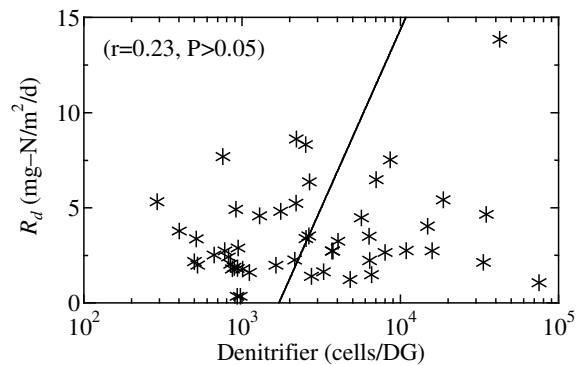


Fig. 5-16 地点 X の底質中の脱窒速度と脱窒菌群数との関係

に減少する季節傾向を示した。また、脱窒速度の経時変化は、脱窒菌群数のそれと必ずしも一致しておらず (Fig. 5-3)、両者間の相関性も低い。

夏季における脱窒速度の増加は、Fig. 5-3 より底質が還元的な状態にあること、間隙水中の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度が減少していることから、底質中において脱窒作用が活性化されたためと考えられる。また、冬季における脱窒速度の減少は、Eh が 200mV 前後と高く、底質が酸化状態であることから、脱窒作用が抑制されたためと考えられる。

脱窒作用を担う脱窒菌群の活性は、一般に泥温、Eh などの生息環境要素や代謝の際の電子供与体である有機物の量及び電子受容体である $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ の濃度によって複合的に左右される。また、脱窒菌群は通性嫌気性細菌であるため、それは増殖の際、必ずしも脱窒（硝酸呼吸）を行うとは限らない。したがって、地点 X の底質の脱窒速度と平均脱窒菌群数の間に相関性の高い一義的關係が見られなかったと推察される。

5.3.4 脱窒速度と無機態窒素フラックス速度との関係

底質に堆積した有機物は、バクテリアにより分解・無機化されて溶存物質として間隙水中に濃縮される。そして、その溶存物質は、さらに直上水-間隙水間の濃度勾配によって直上水中に拡散する。この水中への拡散は、系内へ栄養塩を負荷する経路の一つであり、水深が浅い沿岸域においては海域の栄養塩の動態に大きな影響を及ぼすと考えられている

36). そこで、底質—直上水間の無機態窒素フラックス速度の経時変化を検討した。Fig. 5-17 及び Fig. 5-18 に、それぞれ地点 X における干潟表面から深さ 10cm までの底質の無機態窒素フラックス速度の経時変化を示す。ここで、フラックス速度の正の値は取込を、また負の値は溶出を表す。NH₄⁺-N フラックス速度は、2007 年 1 月を除いて、夏季に溶出、秋季及び冬季を中心に取込の傾向が伺われた。一方、NO₃⁻+NO₂⁻-N フラックス速度は、季節を問わずほぼ取込となっており、脱窒速度の変動と対応するような季節変化が伺われた。すなわち、取込フラックス速度は、夏季から秋季にかけて増加し、冬季から春季にかけて減少した。

河合 (1981)³⁷⁾ は、NH₄⁺-N の溶出フラックスを左右する最も大きな要因として、底質中での有機物の分解・無機化に伴う NH₄⁺-N の生成速度を挙げている。したがって、夏季における NH₄⁺-N フラックス速度は、有機物分解の活性化に伴う底質間隙水中の NH₄⁺-N 濃度の上昇により、溶出が促進されたものと考えられる。また、秋季、冬季では、底質の好気化

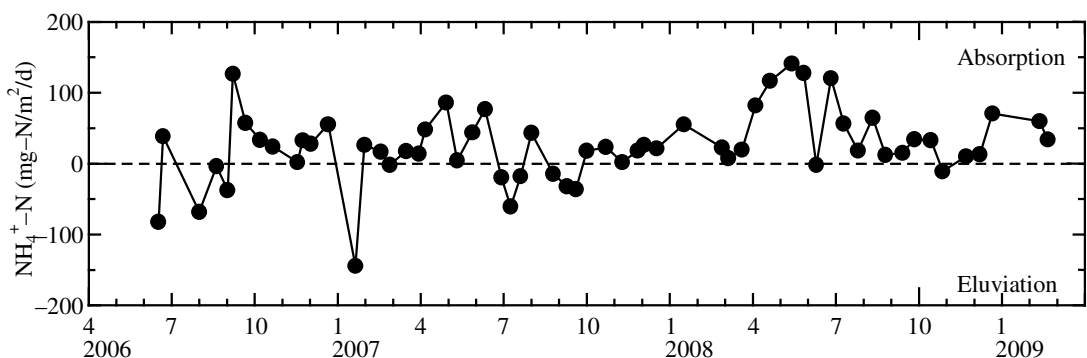


Fig. 5-17 地点 X の底質中の NH₄⁺-N フラックス速度の経時変化

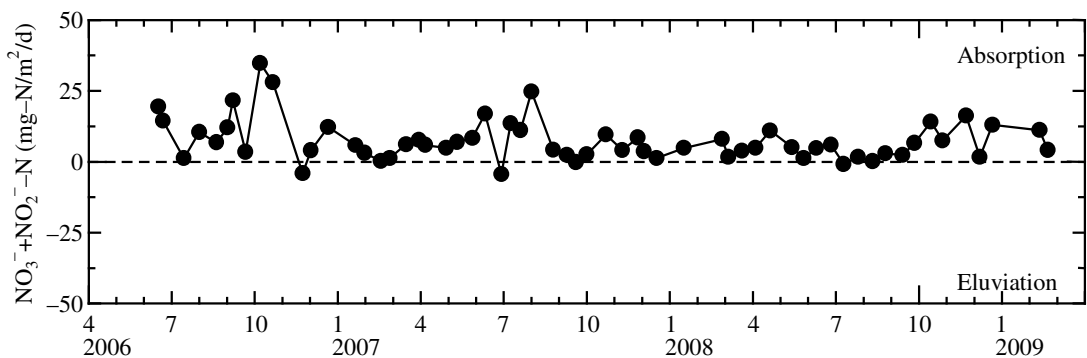


Fig. 5-18 地点 X の底質中の NO₃⁻+NO₂⁻-N フラックス速度の経時変化

に伴って硝化が活性化し、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の取込が増加したものと推察される。一方、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ フラックス速度が季節を問わず取り込まれているのは、間隙水の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が直上水の濃度よりも低いためによるものと考えられる。また、測定期間中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ フラックス速度の平均値 (約 $6.82\text{mg-N/m}^2/\text{d}$) は、脱窒速度のそれ (約 $3.57\text{mg-N/m}^2/\text{d}$) を上回っていることから、底質中に取り込まれた $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ の約半分は脱窒に、また残りの約半分は同化型硝酸還元 (Fig. 1-2 参照) の基質として利用されていると推察される。

Fig. 5-19 に、脱窒速度と $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ フラックス速度との関係を示す。脱窒速度と $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ フラックス速度との間には、有意な正の相関 ($r=0.51$) が見られた。したがって、脱窒活性は、底質直上水中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度に大きく左右されると同時に、海底境界層での窒素収支に重大な影響を及ぼしていると考えられる。

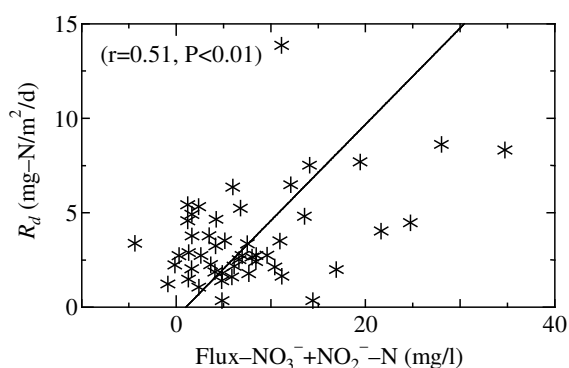


Fig. 5-19 地点 X の底質中の脱窒速度と $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ フラックス速度との関係

5.3.5 脱窒菌群数と環境因子の鉛直分布

Jørgensen (1983)³⁸⁾ は、沿岸域の堆積物における酸化層の厚さは $1\sim 5\text{mm}$ 程度であり、 10mm を超えることはないと指摘している。堆積物表層における酸素の分布は、ベントス群集の分布や代謝活性に大きな影響を与えており、酸素の分布に対応して窒素化合物の代謝経路が変化していることが示唆された (Fig. 5-20)³⁴⁾。

これまでに、地点 X における脱窒速度及び脱窒作用の主な環境因子の季節変化について

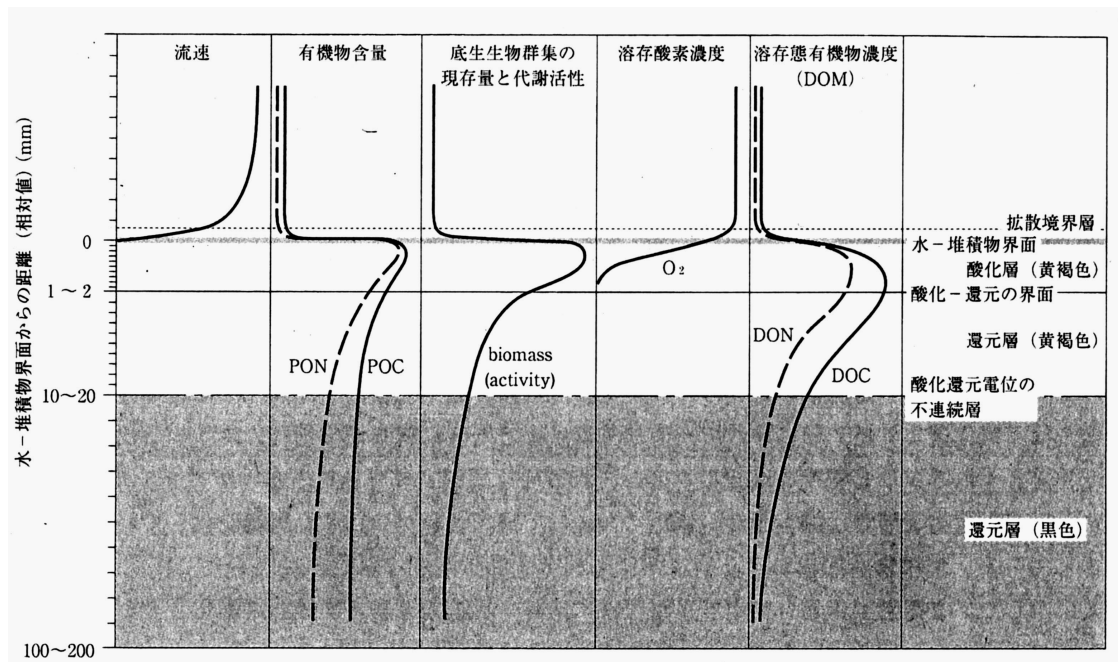


Fig. 5-20 堆積物表層におけるベントス群集のエネルギー代謝に関する化学物質（最終電子受容体及び反応性生物）の濃度及び Eh の鉛直プロファイル^{*}

^{*}）横軸は相対量であり、各要因の鉛直プロファイルの相対的な関係を表している。

検討した。しかし、これらは干潟表面から深さ 10cm までの底質における測定結果の平均値を用いた検討であった。したがって、底質中における各因子の空間的分布製については、まだ十分な検討が行われていない。本来、各因子を空間的に詳細に把握するためには、上図のように、底質-直上水間の境界付近における各因子の鉛直プロファイルを mm 単位あるいはそれ以下の空間スケールで測定することが望ましい。しかし、酸素濃度の測定を除いて、境界付近の鉛直濃度のプロファイルを mm 単位以下の空間分解能で測定する方法は、現在のところ十分に確立されていない³⁹⁾。したがって、干潟表面（深さ 0~5mm 程度）及び干潟表面から深さ 10cm まで 2cm 間隔でスライスカットした底質を用いて測定した各因子について、鉛直プロファイルの特性を検討した。特にここでは、年度別（2006 年度：2006 年 4 月~2007 年 3 月，2007 年度：2007 年 4 月~2008 年 3 月，2008 年度：2008 年 4 月~2009 年 3 月）における季節毎の底質環境における鉛直分布に関して検討を行った。**Fig. 5-21** に、各年度における脱窒菌群数及び泥温の季節ごとの平均的な鉛直分布を示す。なお、脱窒菌群数においては、干潟表面（深さ 0~5mm 程度）は未測定のため、表示されていない。脱

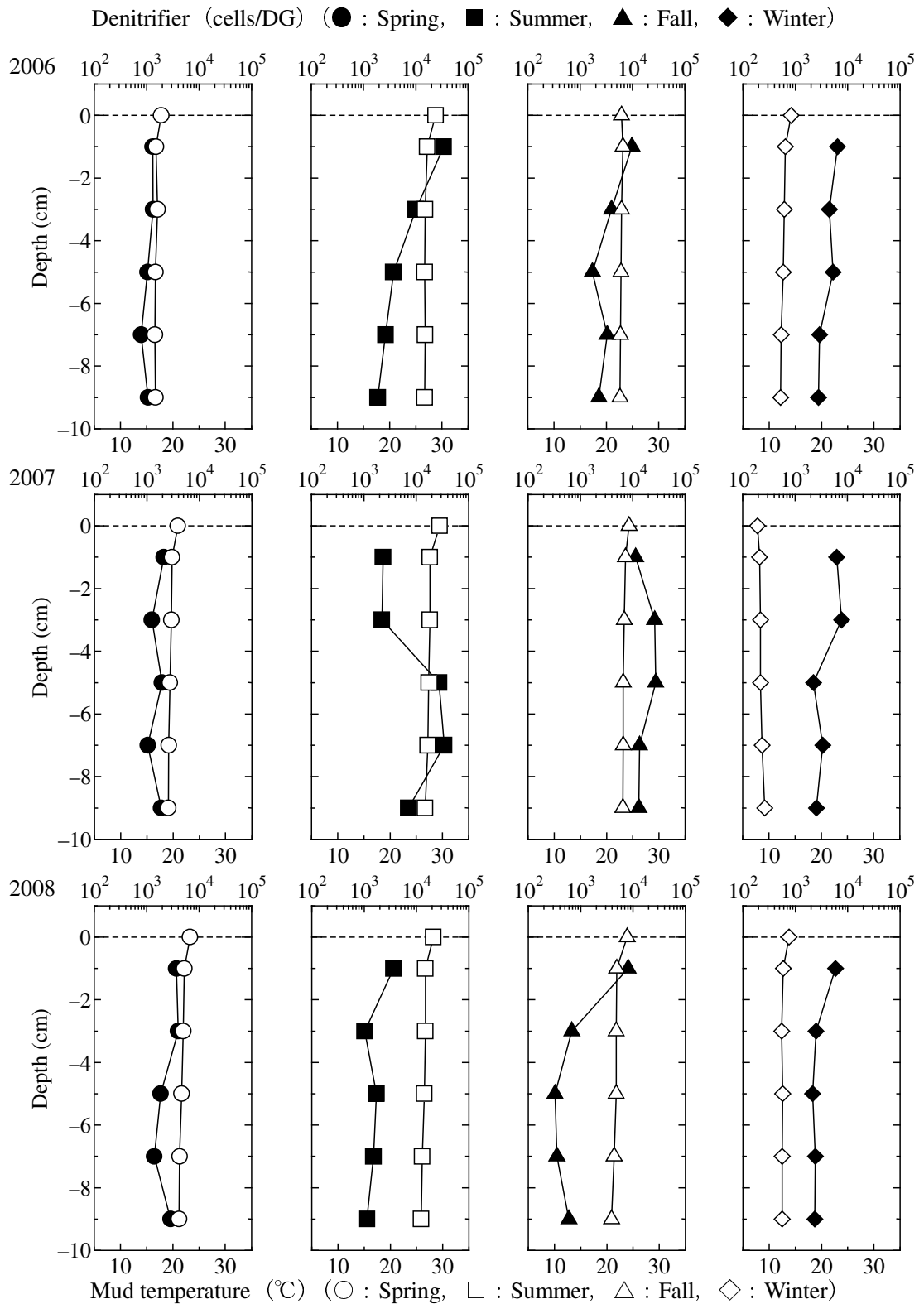


Fig. 5-21 地点 X の干潟表面から深さ 10cm までの底質における脱窒菌群数と泥温の季節毎の平均的な鉛直分布

窒菌群数の鉛直分布は、2007年の夏季及び秋季を除いて、底質上層から下層に向けて減少する傾向を示し、その変動は2006年と2007年の夏季及び2008年の秋季において大きかった。すなわち、2006年夏季で約 $1.9 \times 10^3 \sim 3.4 \times 10^4$ cells/DG、2007年夏季で約 $2.2 \times 10^3 \sim 3.4 \times 10^4$ cells/DG、2008年秋季で約 $3.2 \times 10^2 \sim 8.1 \times 10^3$ cells/DG であった。また、春季及び冬季においては、鉛直方向における生息数の変動は小さく、一様な分布を示した。一方、泥温は、干潟表面においてわずかに温度上昇が見られるが、いずれの季節においてもほぼ一様な分布傾向を示し、各季節におけるその年間平均値は、春季 19.4°C、夏季 27.2°C、秋季 22.7°C、冬季 11.2°C だった。

一般に、土壤微生物は土壤温度と有意な相関が見られる²³⁾が、今回の測定結果からは脱窒菌群数と泥温との間に密接な関連性は見られなかった。これは、脱窒菌群の代謝において、電子供与体となる有機物及び電子受容体となる NO_x の供給が、泥温の増減に直接的に関与していないためと考えられる。また、2007年夏季における深さ 4~8cm の層において、脱窒菌群数の高い値 (約 3.1×10^4 cells/DG) が見られた。これは、採取した底質において、局所的に脱窒菌群の増殖に優位な生息環境が形成されていたためと推察される。

Fan et al. (2006)⁴⁰⁾ は、台湾北部の Tanshui 川河口底質における脱窒菌群の相対的な鉛直プロファイルを示し、脱窒菌群数は底質表層及び深さ 6~8cm 付近でピークを示し、その生息数が深さ 6~8cm 付近において最大になることを示した。本研究における年間を通じた脱窒菌群数は、底質上層から下層に向かって 2cm 毎の層で、それぞれ約 7.9×10^3 cells/DG、約 5.5×10^3 cells/DG、約 6.4×10^3 cells/DG、約 5.6×10^3 cells/DG、約 3.3×10^3 cells/DG であり、深さ 0~2cm の層で最大値を示した。しかし、深さ 4~6cm の層で再び増加する傾向が伺えた。このような脱窒菌群数の鉛直分布の季節変化は、底質中の生息環境要素である Eh、泥温だけでなく、代謝の際の電子供与体となる有機物量、さらには電子受容体となる海水や間隙水中の $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- - \text{N}$ の濃度分布が総合的に影響したと推察される。

脱窒菌群は通性嫌気性細菌であるため、その生息環境における酸素分布は、脱窒作用において非常に重要である。また、底質中の水分は、底質中における溶存物質の拡散を左右する重要なファクターである。そこで、地点 X における底質中の Eh 及び含水比の鉛直プロファイルを検討した。Fig. 5-22 に、各年度における Eh 及び含水比の季節毎の平均的な鉛直

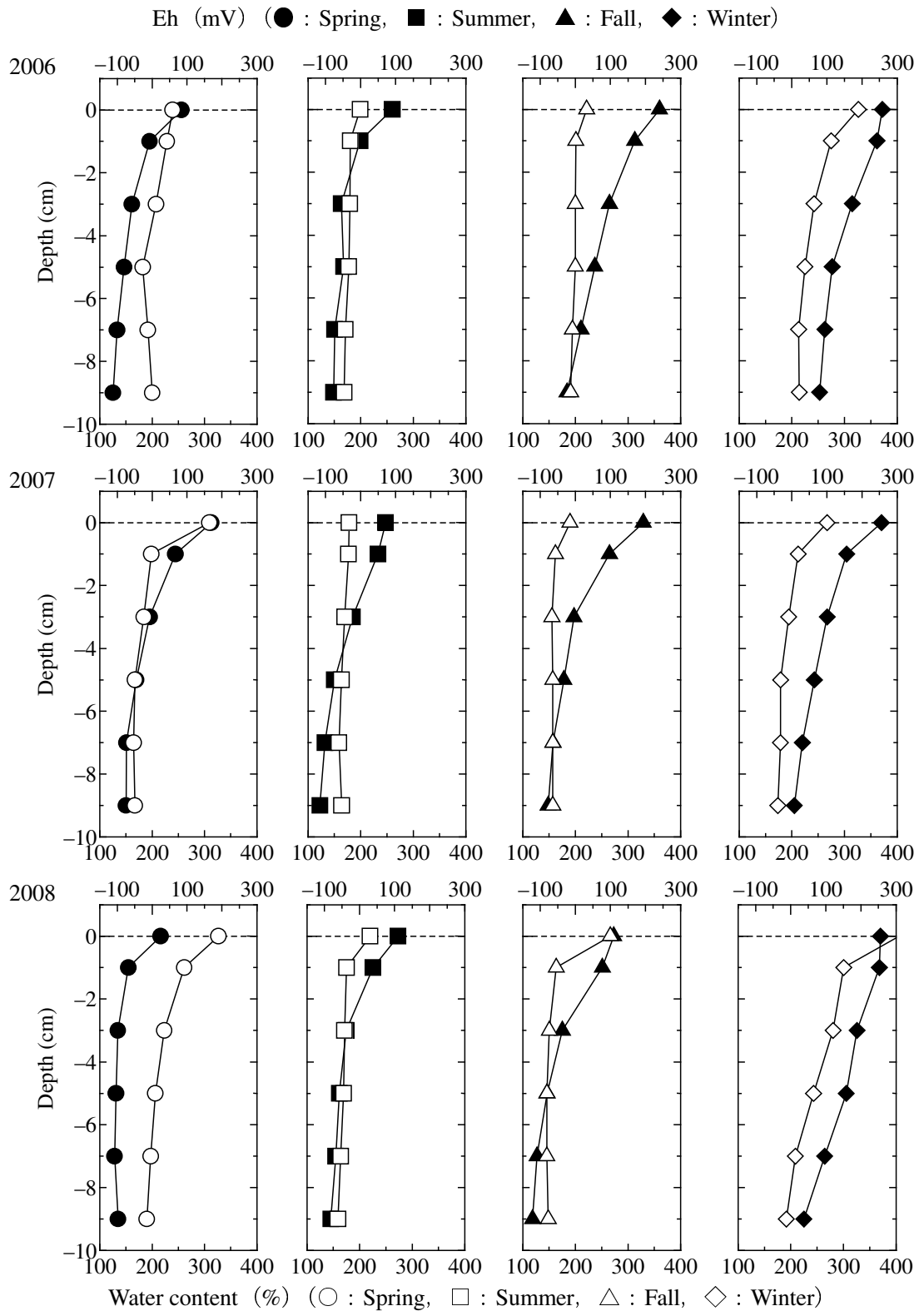


Fig. 5-22 地点 X の干潟表面から深さ 10cm までの底質における Eh と含水比の季節毎の平均的な鉛直分布

分布を示す。Eh 及び含水比は、いずれの季節においても底質上層から下層に向けて減少する分布傾向を示し、全体的に見ると、夏季から冬季にかけて増加し、冬季から夏季にかけて減少する季節変化を示した。年によってばらつきが見られるものの、Eh は春季で約-94～107mV、夏季に約-92～-91mV、秋季で約-75～-185mV、冬季で約 42～-256mV の範囲にあり、春季～冬季へと推移するに伴い、全体的に正の大きな値に変化している。特に冬季では、底質表層を中心に好氣的環境が形成されている。また、冬季を除いて、底質表層では Eh の変動が大きく、概ね深さ 4cm 以深の層で一定の値になった。一方、含水比は、各年を平均すると、春季で約 160～320%、夏季で約 160～200%、秋季で約 160～230%、冬季で約 190～330%の範囲にあり、冬季に最大値を示した。また、2008 年秋季を除く夏季及び秋季において、その値の変動は小さく一様な分布傾向を示した。

Vanderborght and Billen (1975)⁴¹⁾ の知見に基づき、硝化及び脱窒作用における Eh の閾値を 200mV とした場合、2008 年を除いた秋季の干潟表面 (0～0.5cm 程度) 及び冬季の深さ 0～2cm の層では硝化 (酸化) が、それ以外の各季節の層では脱窒 (還元) が起こりやすい状態であったと言える。このような Eh の鉛直分布の季節変化は、底質中の有機物の分解による酸素の消費や泥温変化に伴うバイオターベーションの盛衰が深く関与したと考えられる⁴²⁾。したがって、気温の低下する冬季では、底質中の有機物の好氣的分解が抑制され、酸素の消費が低下するため、脱窒は抑制されると推察される。

夏季及び秋季において、底質表層の含水比が低いのは、蒸発による水分の損失が大きいことに起因すると考えられる。また、その変動が小さいのは、温度上昇に伴うバイオターベーションの活性化により、底質が攪拌されて均一化したことによるものと考えられる。さらに、底質上層から下層に向けて減少しており、底質下層では、圧密による含水量の低下が考えられる。

脱窒菌群の電子供与体となる有機物量、また有機物の優位的な供給源及び分解状態の指標となる C/N 比の鉛直分布について検討した。Fig. 5-23 に、各年度における Org.-C 及び C/N 比の各季節平均の鉛直分布を示す。なお、2006 年夏季における Org.-C 及び C/N 比は、欠測のため表示されていない。Org.-C は春季から夏季にかけて減少し、秋季から冬季にかけて増加する季節変動を呈し、その鉛直分布は干潟表面を除いてほぼ一様な傾向を示した。ま

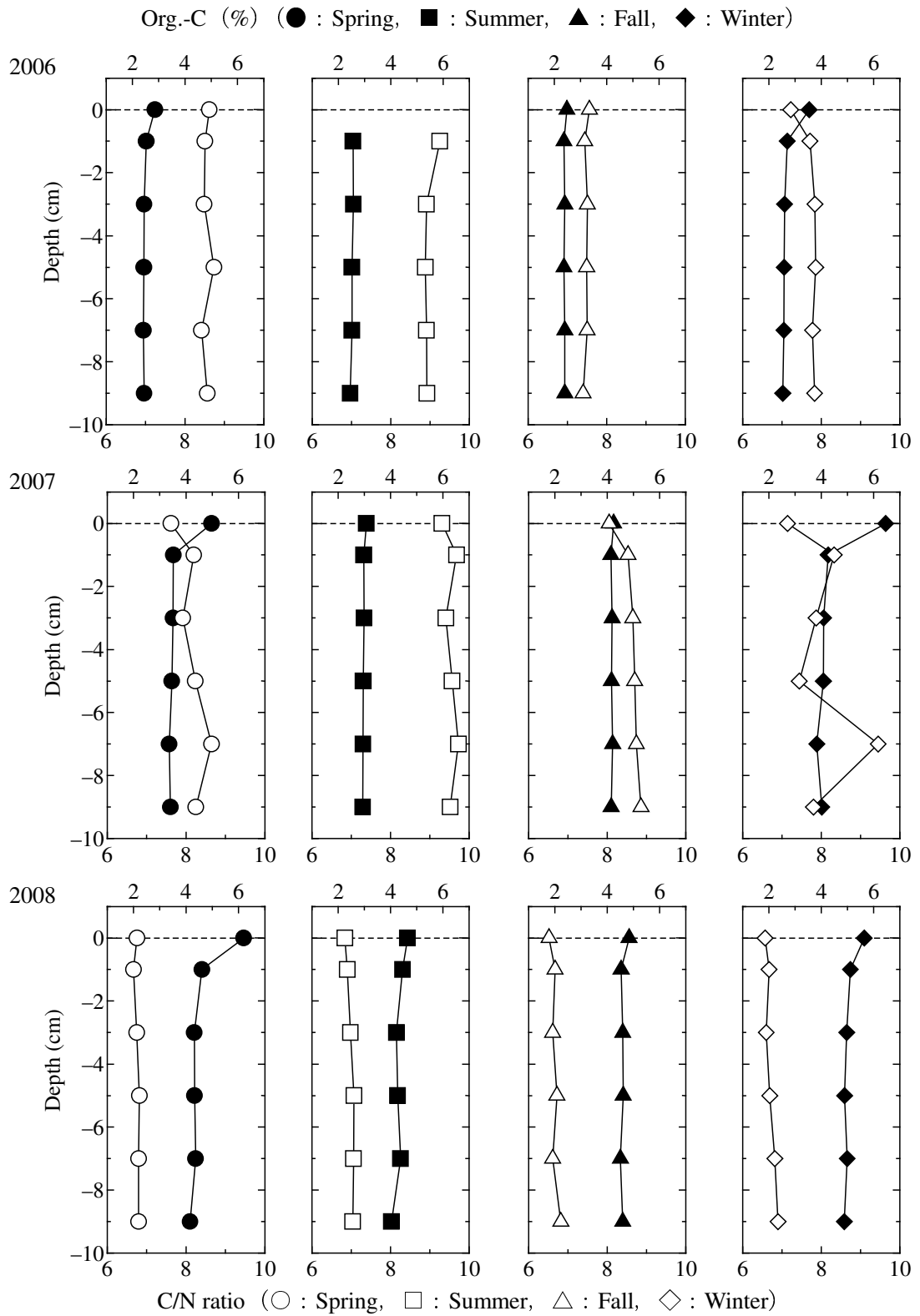


Fig. 5-23 地点 X の干潟表面から深さ 10cm までの底質における Org.-C と C/N 比の季節毎の平均的な鉛直分布

た、その値は 2006 年で約 2.4~3.5%, 2007 年で約 2.9~6.5%, 2006 年で約 4.0~6.2%の範囲にあり、2006 年から 2008 年に向かって徐々に増加する傾向が見られた。一方、C/N 比は、2007 年冬季を除いてほぼ一様な分布傾向を呈し、概ね夏季に上昇、その他の季節で減少している。

Org.-C の季節変動は、泥温の上昇する夏季に、土壤微生物による有機物の分解作用が活性化したこと、逆に泥温の低下する冬季に、有機物の分解作用が不活性化したこと及びノリ養殖による有機物残渣の堆積を反映したと考えられる。また、夏季及び秋季の干潟表面において、底質中の有機物量との値に変化が見られなかったのは、温度上昇に伴うバイオターベーションの活性化により、底質が攪拌により均一化されたためと考えられる。さらに、冬季及び春季の干潟表面において有機物量の高い値が見られたのは、ノリ養殖による有機物残渣が堆積したこと、増殖した珪藻プランクトンなどの死骸が堆積したこと、渦華と呼ばれる付着珪藻が繁茂したことに起因すると推察される。

一般に、C/N 比は有機物の性状や分解の状態によって大きく影響を受け、有機物の分解が進むと C/N 比は 6 程度に減少するとされている²⁹⁾。したがって、C/N 比が夏季に高いのは、河川によって搬入された有機物の増加が影響していると考えられ、有機物の堆積速度が分解速度を上回っていることを示唆している。また、C/N 比の鉛直分布は、Org.-C のそれとは逆に、わずかではあるが干潟表面における値が底質中よりも低い。これは、底質表層における有機物の分解活性が、底質中のそれよりも高いことを示唆している。すなわち、底質表層には、脱窒菌群の電子受容体として用いられやすい易分解性有機物が多く含まれており、底質下層では難分解性有機物が多く含まれている³⁰⁾と推察された。

脱窒菌群の電子受容体となる酸化態窒素を含む DIN ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$) 濃度の鉛直分布について検討した。Fig. 5-24 に、各年度における $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度及び $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度の季節毎の平均的な鉛直分布を示す。

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、直上水中で 0.52~2.13mg/l、間隙水中で 0.12~19.70mg/l の範囲にあり、2007 年冬季を除いて、底質上層から下層に向けて増加する分布傾向を示した。 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、直上水中で 0.04~0.43mg/l、間隙水中で 0.02~0.29mg/l の範囲にあり、2008 年秋季の直上水の値を除くと、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と比較して約 2 オーダー低い値であった。また、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$

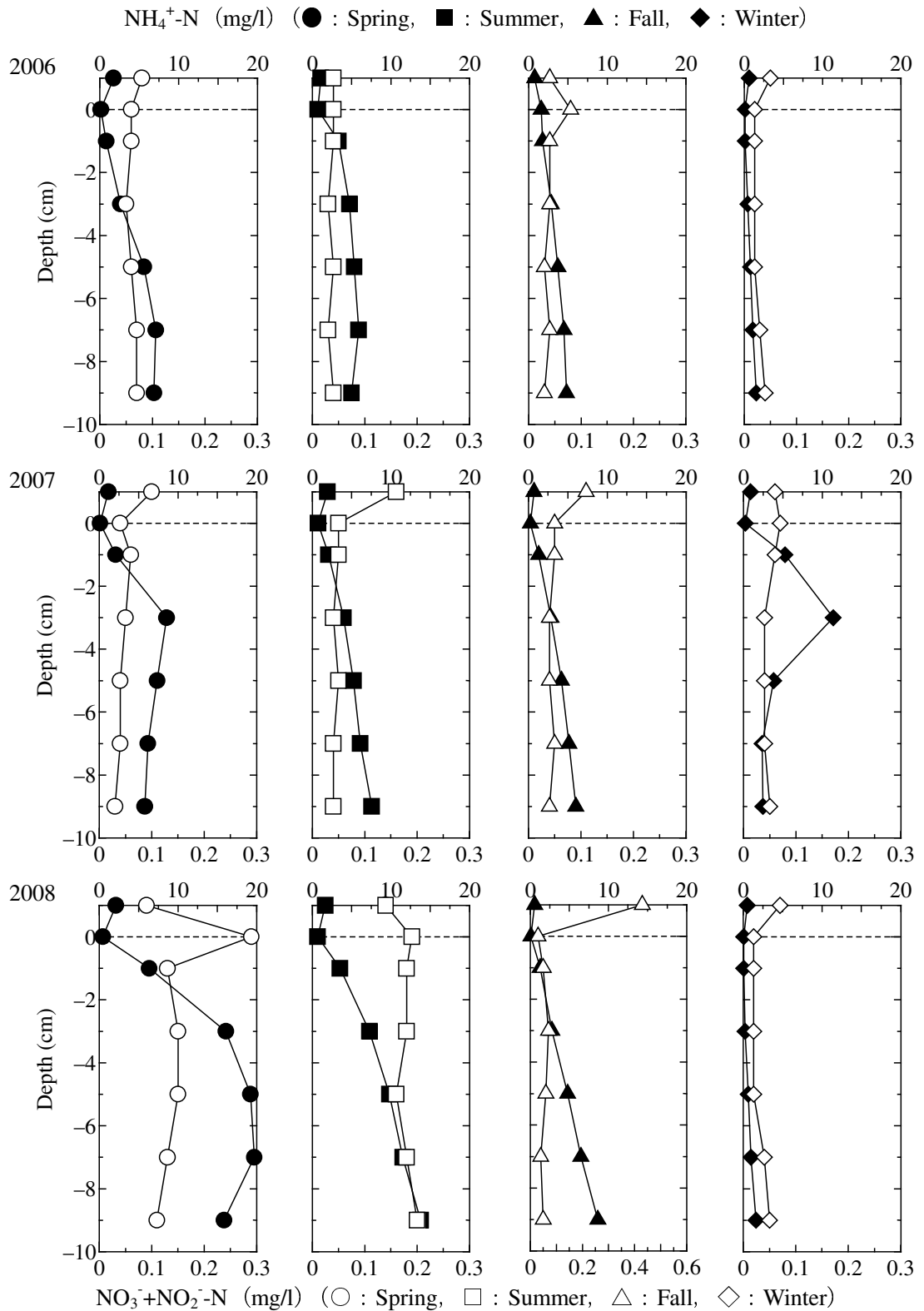


Fig. 5-24 地点Xの干潟表面から深さ10cmまでの底質における $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度と $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度の季節毎の平均的な鉛直分布

濃度は、底質表面付近でわずかに増加する傾向が伺われたが、概ね底質上層から下層に向けてほぼ均一に分布し、季節間の濃度差が比較的小さかった。

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は、アンモニア化成作用 (Fig. 1-2 参照) によって、有機物が分解・無機化されてアンモニアが生成されるため、通常、底質表面へ向かって減少し、 NH_4^+ は濃度勾配に沿って上方に拡散される⁴³⁾。また、 NH_4^+ 濃度は、底質表層では硝化や直上水への溶出により減少する。しかし、底質下層では有機物の分解による NH_4^+ の生成、蓄積により深さと共に増大すると考えられる。また、2007 年を除いた冬季において、全般的に $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度が低いのは、泥温の低下に伴い有機物の分解による生成が不活性化するためと推察される。

$\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が、底質表面付近を除いて全般的に低い値を示したのは、春季及び夏季、秋季においては、底質表面付近を除いた底質中が嫌気的環境のために硝化活性が低く、 NO_3^- 及び NO_2^- の生成が少ないため、さらに脱窒菌群の代謝によって N_2 に還元されたためと考えられる。また、冬季においては、底質中に好気的環境が形成されているために硝化作用が起りやすいが、泥温の低下に伴う有機物分解の不活性化によって、 NH_4^+ の生成が抑制されることで硝化活性が低く抑えられたためと考えられる。

本研究において得られたデータに基づき、脱窒菌群数及び主な環境因子の鉛直プロファイルの概要図を Fig. 5-25 に示す。脱窒菌群は、底質表層で最大値を示し、深さ 4~6cm 付近で再び増加後、深さに伴って減少する傾向を示した。

底質表層に見られる脱窒菌群のピークは、脱窒菌の代謝において電子供与体及び電子受容体となる有機物量、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が豊富であることに起因する。しかし、Eh が高いこ

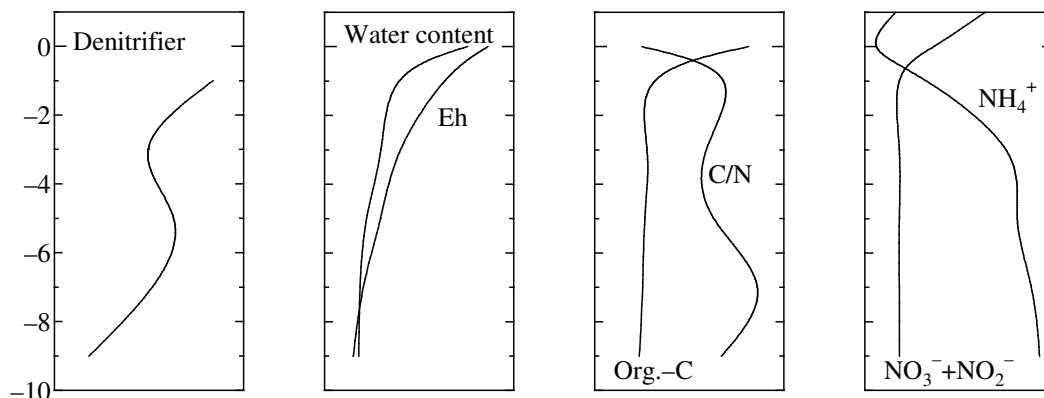


Fig. 5-25 脱窒菌群及び主な環境因子の相対的な鉛直プロファイル

とから、嫌気呼吸である脱窒によって増殖しているのか、あるいは酸素呼吸によって増殖しているのかは定かではない⁴⁴⁾。

Fan et al. (2006)⁴⁰⁾ は、台湾北部の Tanshui 川河口底質における脱窒菌群及び無機態窒素濃度の相対的な鉛直プロファイルを示し、その分布によって底質を 4 層に区分している。そこで、深さ 1~5cm において硝化及び脱窒作用の連結が起こり、さらに深さ 5~9cm で脱窒及びアンモニアへの同化型硝酸還元が起こっているとしている。これより、**Fig. 5-25** において、深さ 4~6cm 付近の層に見られる脱窒菌群数のピークは、Eh の低い環境で現れており、脱窒菌群は脱窒によって増殖していると推察される。しかし、この層における $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度は低く、ゼロに近い状態であった。これは、脱窒菌群の増殖によって $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ の消費が拡大したためと推察される⁴⁰⁾。また、脱窒菌群数は、含水量、有機物量、酸化態窒素濃度などに関連性が指摘されている^{34), 45)} が、有明海奥部における泥質干潟（地点 X）では、保水性の高い有明粘土を主とする底質であること、他海域と比較して高い有機物量を保持していることから、脱窒菌群の増殖は、 $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度が主な制限因子となっていることが推察される。

5.4 結論

本章では、有明海奥部泥質干潟域において、脱窒作用を担う脱窒菌群の生息分布や脱窒速度、さらにはそれらを左右する環境因子の鉛直分布性などについて、調査及び実験データに基づき、検討、考察した。その結果、明らかになった知見を要約すると次のようになる。

- 1) 泥質干潟（地点 X）において、干潟表面から深さ 10cm までの底質中の脱窒菌群数は、泥温が高く嫌気的環境が形成される 2006 年と 2007 年の夏季及び 2008 年秋季に大きく増加（平均約 1.1×10^4 cells/DG）し、各年の冬季においても、夏季ほどではないが脱窒菌群数の増加（平均約 4.1×10^3 cells/DG）が見られた。また、春季においては、全般的に脱窒菌群数の減少（平均約 1.7×10^3 cells/DG）が見られた。夏季及び冬季における脱窒菌群数の増加が見られた要因の一つとして、前者では温度上昇に伴う脱窒菌群の活性化及び河川流入量の増加による有機物供給量の増加、後者ではノリ養殖期による有機物残渣の堆積及び通性嫌気性細菌である脱窒菌群の酸素呼吸による増殖が考えられる。
- 2) 泥質干潟（地点 X）において、干潟表面から深さ 10cm までの底質中の Org.-C 及び Org.-N は、それぞれ約 2.1~5.1%、約 0.2~0.8% の範囲で変動し、2006 年 6 月及び 2007 年 7 月、2008 年 8 月など概ね夏季に減少する季節変化を示した。また、底質間隙水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及び $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、それぞれ約 0.2~17.9mg/l、約 0.01~0.31mg/l の範囲で変動し、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度が夏季に増加し冬季に減少する季節変化を示したのに対し、 $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と比較して全般的に低く、明確な季節変動を示さなかった。このような有機物量や DIN 濃度の季節変化は、それぞれ河川流入による有機物の供給量やバクテリアによる分解量を、有機物の分解・無機化に伴う硝化・脱窒作用が大きく影響しているものと推察された。

- 3) 泥質干潟（地点 X）において、底質中の脱窒速度は経時的に大きく変化し（ $0.35 \sim 13.86 \text{mg-N/m}^2/\text{d}^1$ ），概ね夏季から秋季にかけて増加し，冬季に減少する季節傾向を示した．また，脱窒菌群数との間には，必ずしも一義的な関係が認められなかった．これは，底質環境の酸素分布に応じて脱窒菌群の呼吸形態（硝酸呼吸と酸素呼吸）が変化するため，脱窒速度と脱窒菌群数との間に差異が生じたものと推察された．
- 4) 泥質干潟（地点 X）において，底質－直上水間の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ フラックス速度は，夏季に溶出，秋季及び冬季を中心に取込の傾向が伺われた．一方， $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ フラックス速度は，季節を問わずほぼ取込となっており，脱窒速度の増減と対応するような季節変化が伺われた．このようなフラックス速度の増減は，直上水と間隙水間の濃度勾配に依存しており， $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の溶出は有機物分解の活性化に伴う間隙水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度上昇を，取込は底質の好酸化に伴う硝化作用の活性化を反映していると推察される．また，測定期間中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ フラックス速度の平均値（約 $6.82 \text{mg-N/m}^2/\text{d}$ ）は，脱窒速度のそれ（約 $3.57 \text{mg-N/m}^2/\text{d}$ ）を上回っていることから，底質中に取込まれた $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ の約半分は脱窒に，また残りの約半分は同化型硝酸還元の前駆体として利用されていると考えられる．さらに，底質中における脱窒速度は，脱窒菌群の電子受容体として間接的に関与する $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ フラックス速度に大きく左右されていると推察された．
- 5) 泥質干潟（地点 X）の表面から深さ 10cm までの底質において，脱窒菌群数及び主な環境因子の鉛直プロファイルの概要が得られ，脱窒菌群数は底質表層及び深さ 4～6cm 付近の層でピークを示した．また，深さ 4～6cm 付近の層における脱窒菌群数は，脱窒作用によって増殖しており，それに伴って $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度がゼロに近い状態になったと推察される．
- 6) 泥質干潟（地点 X）における脱窒菌群の増殖は， $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が制限因子となっていることが推察され，生化学的現象である脱窒作用には，直接的あるいは間接的に関

与する Org.-C や C/N 比, $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ -N 濃度, $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ -N フラックス速度など底質中の種々の環境因子が複雑に関与していると推察された.

第6章 脱窒速度と環境因子との関連性

6.1 緒論

近年、我が国では水域の富栄養化問題と平行して、干潟の消失も問題となっており、それらの生物学的価値や浄化機能に焦点を当てた調査や研究が行われている^{1)~5)}。干潟生態系における生物生産、有機物の分解・無機化過程を定量的に推定し、系全体の窒素収支を明らかにした報告例は世界的にも少ない。我が国では、水産庁が主体となって、三河湾一色干潟の砂質干潟に関する研究が代表される^{1)・6)・7)}。他にも、有明海と同じ閉鎖性内湾である東京湾、伊勢・三河湾、大阪湾などでは、貧酸素水塊の形成機構や窒素及びリンなどの物質循環に関する研究が行われ^{8)~10)}、現地での調査及び測定データを基に、窒素収支や生態系を含めた物質循環のモデル化が検討されるなど、富栄養化対策などが既に検討・実施されている^{11)~14)}。

現在、有明海では貧酸素水塊や赤潮発生のメカニズムについて研究が進められているものの^{15)~17)}、窒素収支についての詳細な調査報告は少なく、脱窒作用を担う脱窒菌群との関連性についてはほとんど報告されていない¹⁸⁾。これは、他海域とは異なり、有明海奥部には広大な泥質干潟が形成され、泥質干潟における物質循環の特性及び水質浄化機能などについては、いまだ定量的に評価されておらず、未解明の部分が多いためである。

有明海奥部干潟域における環境浄化能力を定量的に評価するには、窒素循環のメカニズムを解明することが重要である。すなわち、窒素循環において重要な役割を担う脱窒作用の特性を明らかにすることは、非常に有意義であり不可欠であると考えられる。また、海域における脱窒能の水準を把握し、脱窒活性に影響を及ぼす環境因子を明らかにすることは、今後の海域環境の再生に大いに役立つと考えられる。

本研究は、干潟域底質の窒素循環メカニズムの解明を前提に、有明海奥部の広域的な脱窒菌群数の分布性や泥質干潟の脱窒活性とその環境因子を明らかにすることを目的とした。

これまで、第 3 章及び第 4 章において、有明海奥部における底質粒径の異なる干潟域、有明海奥部泥質干潟に位置する浅海域と干潟域、泥質干潟域における干出と冠水時などについて、底質環境の違いが及ぼす酸化還元状態や栄養塩動態、脱窒菌群数の変化について検討を行ってきた。また、第 5 章においては、有明海奥部の典型的な干潟である泥質干潟について、干潟の持つ環境浄化機能に関与する脱窒作用について詳細な調査及び測定データを基に検討を行った。本章では、第 3 章～第 5 章で得られた知見より、本調査地域における底質特性及び各季節における脱窒活性に影響を及ぼす環境因子について検討、考察した。

6.2 結果及び考察

6.2.1 他地域における脱窒速度との比較

本実験において得られた脱窒速度と他海域において同様の手法で測定された値との比較を行った。Table 6-1^{19) ~24)} は、国内外の干潟域及び浅海域で採取された底質を用いて測定された脱窒速度を示す。本実験における脱窒速度は、国内外の他の地点で測定された値とオーダー的にほぼ等しい結果が得られた。したがって、有明海奥部干潟域における脱窒活性は、他海域と同程度の水準であることが言える。また、脱窒速度は、全般的に沿岸域よりも干潟域において、また砂質よりも泥質の干潟域において高くなる傾向が伺われた。

干潟域においては、干出・冠水に伴って酸素供給の形態が変化する。そのため、底質中における酸素濃度の変動が大きく、酸化的環境と還元的環境が混在することで、硝化及び脱窒作用の連結した過程が活性化されやすいことが考えられる。また、泥質干潟においては、脱窒菌群の炭素源となる有機物の含有量が高いこと²⁵⁾ や脱窒菌群の生息に適した部位（不連続層）が形成されやすい²⁶⁾ ことなどから、脱窒活性が高まることが考えられる。

しかし、底質表層（深さ 0~4cm）における脱窒速度については、砂質において高く、泥質において低くなる傾向が示された。ここで注目すべき点は、底質深さ（深さ 0~4cm、深さ 0~10cm）の違いが及ぼす脱窒速度への影響である。調査及び測定地点、また調査期間が異なることから、厳密に比較することはできないが、深さが 0~10cm の底質における脱窒速度は、深さが 0~4cm の底質と比較して約 5 倍高い値を示した。Sørensen et al. (1979)²⁷⁾ は、デンマークの沿岸域の底泥における脱窒活性の測定から、脱窒作用は深さ 4cm 程度までにおいて活性化すると述べていた。しかし、Fan et al. (2006)²⁸⁾ は、台湾北部の Tanshui 川河口底質における脱窒菌群の測定から、深さ 9cm 程度まで脱窒作用が起こると述べている。本実験でも、泥質干潟においては深さ 4cm 以深でも脱窒活性が起こっており、深さ 4cm 以深で活性が高まっていることが推察された。これは、Fig. 5-23 において、脱窒菌群数の増加が見られることなどからも、深さ 4cm 以深で脱窒作用が活性化していることが伺われる。したがって、測定方法や実験条件の違いが懸念されるが、底質特性の差異は、脱窒活性の

Table 6-1 干潟域及び浅海域における底質のアセチレン阻害法（コア法）を用いた脱窒速度の測定値^{19) ~24)}

Locations	Samples	Denitrification rates (mg-N/m ² /d)	References
Ariake Sea (Japan)	Sand flat (0-4cm)	0.59-7.88 (mean: 2.89)	Present study
	Mud-Sandy flat (0-4cm)	0.26-2.64 (mean: 0.86)	
	Mud flat (0-4cm)	0.35-2.23 (mean: 0.76)	
	Mud flat (0-10cm)	0.35-13.86 (mean: 3.57)	
Tokyo Bay (Japan)	Coastal sediment (0-30cm)	2.73-4.69	Nishio, T. et al. (1982) ¹⁹⁾
Odawa Bay (Japan)	Coastal sediment (0-30cm)	0.79-4.66	
Hiroshima Bay (Japan)	Tidal flat	0.01-20.00	Seiki, T. et al. (2008) ²⁰⁾
	Coastal sediment	0.10-3.40	
Norsminde Fjord (Denmark)	Mud flat	2.00-10.00	Jørgensen, K.S. and Sørensen, J. (1988) ²¹⁾
Tomales Bay (U.S.A.)	Mud flat	1.00-10.00	Joye, S.B. and Paerl, H.W. (1994) ²²⁾
Deleware Inlet (New Zealand)	Mud flat (0-10.5cm)	1.23-10.96 (mean: 4.08)	Kasper, H.F. (1983) ²³⁾
	Sand flat (0-10.5cm)	1.64-7.92 (mean: 2.94)	
Aarhus Bight (Denmark)	Coastal sediment	4.90-6.58	Nielsen, L.P. and Glud, R.N. (1996) ²⁴⁾

分布に大きく影響を及ぼすと考えられる。

6.2.2 脱窒活性に影響を及ぼす環境因子

脱窒活性を左右する環境因子を明らかにするため、脱窒速度と主な環境因子^{20), 29)}の関連性について検討した。Table 6-2に、第3章で得られた、有明海奥部干潟域における各底質（砂質、砂泥質、泥質）の脱窒速度と主な環境因子との相関係数を示す。全般的に、脱窒速度とそれらとの間には、有意な相関性は見られなかった。また、脱窒活性を担う脱窒菌群との相関性は、砂泥質 ($r=0.43$)、砂質 ($r=0.20$)、泥質 ($r=0.10$) の順で低くなった。さらに、各底質で見ると、全体的に砂質干潟における相関性 ($r=0.20\sim0.62$) が高く、泥質における相関性 ($r=0.07\sim0.10$) が低かった。

季節的な傾向を考慮していないため断定することはできないが、泥質干潟における脱窒作用は、砂質干潟と比較して、環境因子がより複雑に関与していると考えられる。

そこで、第5章で得られた泥質干潟における結果を基に、底質環境における環境因子の関連性及び各季節における脱窒速度と環境因子との関連性について検討した。Table 6-3に、

Table 6-2 有明海奥部干潟域における各底質（砂質、砂泥質、泥質）の脱窒速度 (R_d) と主な環境因子との相関係数

	Sandy	Mud-sandy	Muddy
Denitrifier (cells/DG)	0.20	0.43	0.10
Mud content (%)	0.40	0.37	0.10
Mud temperature (°C)	0.62	0.18	0.08
Eh (mV)	0.36	0.30	0.07
Org.-C (%)	0.48	0.21	0.07
NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻ -N (mg/l)	0.34	0.08	0.09

(** : $P<0.01$, * : $P<0.05$)

Table 6-3 泥質干潟における脱窒速度及び諸測定項目の相関係数 (* : $P < 0.01$, ** : $P < 0.05$)

	Denitrifier (cells/DG)	MT (°C)	Eh (mV)	Org.-C (%)	Org.-N (%)	C/N ratio	Pore water (mg/l)		Overlying water (mg/l)		Flux (mg-N/m ² /d)	
							NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻ -N
<i>R_d</i>	0.23	0.31	0.09	0.25	0.20	0.18	0.05	0.06	0.06	0.11	0.16	0.51**
Denitrifier		0.25	0.10	0.04	0.12	0.27	0.01	0.17	0.07	0.03	0.27	0.00
MT			0.47	0.16	0.16	0.13	0.33	0.22	0.32	0.11	0.03	0.18
Eh				0.02	0.02	0.21	0.53**	0.25	0.22	0.14	0.03	0.15
Org.-C					0.95**	0.61**	0.36	0.39	0.02	0.38	0.33	0.20
Org.-N						0.76**	0.39	0.45	0.04	0.37	0.39	0.26
C/N							0.21	0.40	0.09	0.21	0.39	0.26
P-NH ₄								0.61**	0.24	0.04	0.23	0.08
P-NO ₃₊₂									0.31	0.08	0.38	0.18
O-NH ₄										0.05	0.23	0.09
O-NO ₃₊₂											0.11	0.19
F-NH ₄												0.10

R_d: Denitrification rate, Denitrifier: Denitrifier numbers, MT: Mud temperature, P: Pore water, O: Overlying water, F: Flux rate

泥質干潟における，年間を通した脱窒速度と諸測定項目の相関係数を示す．脱窒速度は， $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ フラックス速度との間に有意な相関性 ($r=0.51, P<0.01$) が見られ，脱窒菌群をはじめとするその他の項目との相関性 ($r=0.05\sim 0.31$) は低かった．また，Eh と間隙水中の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度 ($r=0.53, P<0.01$)，間隙水中の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度と $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度 ($r=0.61, P<0.01$) との間にも有意な相関性が見られた．両者の関係を **Fig. 6-1** 及び **6-2** に示す．

間隙水中の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度は，Eh の上昇に伴って減少する負の相関性が見られた．これは，Eh の上昇に伴い底質が酸化環境になることで，硝化作用が活性化し $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ が消費されるためと考えられる．また，間隙水中の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度と $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度には，正の相関性が見られた． $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ は，通常，硝化作用によって $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ から生成され，間隙水中の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度は，底質直上水からの供給及び硝化による生成に依存している．しかし， $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ から $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ への酸化過程は可逆反応であり，同化型硝酸還元反応により $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ から $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ への還元過程も生じている (**Fig. 1-2** 参照)．そのため，両者の間には関連性が見られたものと考えられる．

次に，脱窒速度と環境因子との関連性について，各季節における検討を行った．**Table 6-4** に，泥質干潟における各季節平均の脱窒速度と主な環境因子との相関係数を示す．脱窒速度と主な環境因子との相関係数は，各季節において大きく異なった．例えば，春季では C/N 比 ($r=0.85, P<0.01$) と間隙水中の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度 ($r=0.76, P<0.01$)，夏季では C/N 比 ($r=0.53, P<0.05$)，さらに冬季では C/N 比 ($r=0.76, P<0.05$) との間にも有意な相関性が認められた．

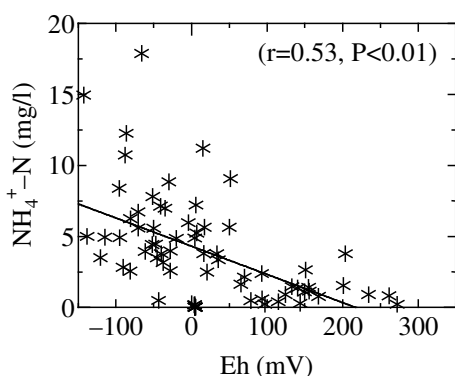


Fig. 6-1 Eh と間隙水中における $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度との関係

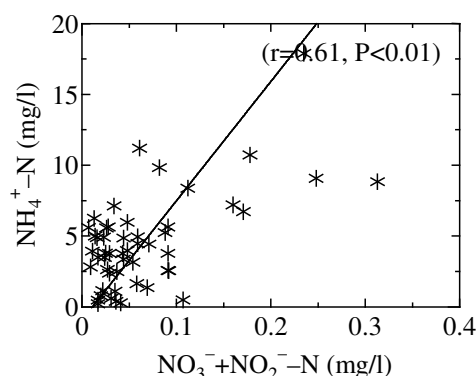


Fig. 6-2 間隙水中における $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度と $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度との関係

脱窒作用を担う脱窒菌群については、春季にやや相関性 ($r=0.53$) が見られるものの、冬季では全く相関性が見られなかった。これは、冬季における脱窒菌群の増殖が嫌気呼吸 (脱窒) ではなく、好気呼吸によるものであることを示唆していると考えられる。

本実験において、脱窒作用には底質中の様々な環境因子が複雑に関与し、またその度合いは季節によって異なっていると考えられる。しかし、泥質干潟における脱窒速度は、概して四季を通し、脱窒の際に電子供与体として直接的あるいは間接的に関与する Org.-C や C/N 比、さらには電子受容体として直接的に関与する間隙水中の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度に大きく左右されていることが推察される。

他海域^{19) ~24)}と比較すると、本実験で得られた泥質干潟における Org.-C は高く、間隙水中の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度は低い傾向が見られた。脱窒活性は、種々の生物学的作用と同様に温度に影響される³⁰⁾が、Jørgensen and Sørensen (1985)³¹⁾は、その温度の効果は、さらに $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 濃度によって影響を受けると述べている。また、Norsminde Fjord における脱窒作用の季節変化においても、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 濃度の重要性を述べている²¹⁾。したがって、有機物が豊富

Table 6-4 有明海奥部干潟域における各季節平均の脱窒速度 (R_d) と主な環境因子との相関係数 (* : $P < 0.01$, ** : $P < 0.05$)

	Spring	Summer	Fall	Winter
Denitrifier (cells/DG)	0.49	0.54	0.37	0.13
Mud temperature (°C)	0.57	0.13	0.04	0.03
Eh (mV)	0.19	0.16	0.30	0.18
Org.-C (%)	0.49	0.32	0.48	0.14
Org.-N (%)	0.61	0.38	0.22	0.29
C/N ratio	0.85**	0.53*	0.36	0.76*
$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$				
Pore water (mg/l)	0.76**	0.29	0.31	0.46
Over lying water (mg/l)	0.59	0.22	0.27	0.42
Flux rate (mg-N/m ² /d)	0.66	0.30	0.79	0.35

に存在する泥質干潟における脱窒速度は，脱窒作用において電子受容体となる間隙水中の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度が制限因子となっていると推察される．

6.3 まとめ

本章では、有明海奥部泥質干潟域において、脱窒速度と主な環境因子の関連性について、調査及び実験データに基づき、検討、考察した。その結果、明らかになった知見を要約すると次のようになる。

- 1) 底質表層（深さ 0～4cm）における脱窒速度は、砂質において高く、泥質において低くなる傾向が示された。また、泥質干潟においては、底質高（深さ 0～4cm, 深さ 0～10cm）の差異における脱窒速度から、深さ 4cm 以深でも脱窒作用が生じていることが推察された。したがって、底質環境の差異は、脱窒活性の分布に大きく影響を及ぼすと考えられる。
- 2) 本実験における脱窒速度は、国内外の他の地点で測定された値とオーダー的にほぼ等しい結果が得られ、有明海奥部干潟域における脱窒活性は、他海域と同程度の水準であった。
- 3) 泥質干潟の表面から深さ 10cm までの底質における各月平均の脱窒速度と主な環境要因との相関性は、季節毎に大きく異なるが、概して四季を通し、脱窒速度は Org.-C や C/N 比、間隙水中の $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度に大きく左右されていると推察される。

第7章 総括

本研究は、干潟の環境浄化機能を支える脱窒作用に注目し、有明海奥部干潟域における脱窒菌群の生息分布や脱窒特性とその環境因子との関連性などについて明らかにすることを目的としたものである。特にここでは、1) 底質特性の大きく異なる砂質、砂泥質及び泥質の干潟において脱窒作用を担う脱窒菌群数の分布や底質環境因子及び季節変化が脱窒作用に及ぼす影響、2) 海域環境の異なる浅海域と干潟域における脱窒菌群数及び底質環境因子の季節的推移、3) 泥質干潟における脱窒活性及び栄養塩動態の時空間的变化について現地観測や実験データに基づき、検討、考察を行った。さらに、1)～3)の実験により得られた結果から、脱窒活性とそれに影響を及ぼす種々の底質環境因子との関連性を明らかにし、脱窒活性の律速因子について検討を行った。

本章では、各章の概要を以下のように総括する。

第1章では、本研究の背景及び目的を明らかにし、本論文の構成について述べた。

第2章では、本研究で用いた調査及び測定方法について論じた。脱窒速度にはアセチレン阻害法（コア・ヘッドスペース法）を用い、予備実験により実験条件を設定した。また脱窒菌群の計数にはMPN法を用い、陽性管の判定方法について図解した。さらに、無機態窒素フラックス速度の算出式及び実験手法について述べた。その他、Eh、含水比、有機物量、直上水及び間隙水中の無機態窒素濃度の測定法についても述べた。

第3章では、有明海奥部に広がる砂質、砂泥質、泥質干潟の底質特性の違いが脱窒菌群数及び底質環境因子に及ぼす影響について季節毎に検討、考察した。はじめに、陸域からの流入及び内部生産による栄養塩負荷の増大に対して、干潟が有する環境浄化能力の効果と重要性について述べ、本章の意義や必要性について論じた。次に、有明海奥部干潟域における脱窒特性の違いを把握するため、砂質、砂泥質、泥質干潟に分布する14ヶ所の地点に調査地を設定し、調査項目及び測定方法について説明した。そして、脱窒菌群や底質環境因子の季節変化を示し、含泥率の違いが及ぼすそれぞれへの影響について論じた。

まず、採取した底質の含泥率から調査地点を砂質、砂泥質、泥質干潟に分類し、脱窒菌群数及び泥温、Eh、有機物量、無機態窒素濃度、脱窒速度の季節変化及び含泥率との関係について検討した。その結果、脱窒菌群数は夏季に多く生息し、含泥率との間に高い正の相関性 ($r=0.75\sim 0.92$) が見られた。また、有機物量は、脱窒菌群数と同様に夏季に増加し、含泥率との間に正の相関性 ($r=0.58\sim 0.97$) が見られた。すなわち、含泥率が底質中の Eh や脱窒菌群の電子供与体となる有機物量と密接に関係することで、脱窒菌群の生息数に影響を及ぼすと推察された。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度が夏季に増加し冬季に減少する季節変動を示す一方、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は全般的に低いながらも $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度と相反する季節変動を示した。この $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ は脱窒菌群の電子受容体であることから、この濃度の増減は硝化及び脱窒作用の活性・不活性化を反映すると考えられる。さらに、脱窒速度は夏季に高く冬季に低い季節傾向を示すものの、脱窒作用を担う脱窒菌群数との対応性は見られなかった。

第 4 章では、有明海奥部の満潮時における干潟域・浅海域及び干潮時における干潟域などの底質特性の違いが脱窒菌群数及び底質環境因子に及ぼす影響について季節毎に検討、考察した。はじめに、干潟の物質循環における浅海域の栄養塩動態の受容性を述べ、本章の意義や必要性を論じた。次に、有明海奥部干潟域・浅海域における脱窒特性の違いを把握するため、満潮時における干潟域・浅海域及び干潮時における干潟域に調査地を設定し、調査項目及び測定方法について説明した。そして、脱窒菌群や底質環境因子の季節変化を示し、干出・冠水による違いが及ぼすそれぞれへの影響について論じた。

まず、採取した底質における脱窒菌群数及び底質環境因子の季節変化について検討した。その結果、脱窒菌群数は秋季に増加し春季に減少する季節変動を示し、満潮時における干潟域及び浅海域の脱窒菌群数の季節変化に大きな差異は見られなかったが、干潮時における干潟域の生息数は 1 オーダー高かった。また、有機物量は夏季に減少し、冬季に増加する季節変動を示し、また、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度は冬季に減少し、逆に $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は全般的に低いながらも冬季に増加する季節変動を呈した。

次に、底質環境因子の鉛直プロファイルの季節変化について検討を行った。その結果、Eh はいずれの季節も底質上層から下層に向けて緩やかに減少しており、干潮時の干潟域においてやや低い値が得られた。また、Org.-C では干潮時の干潟域を、C/N 比では満潮時の浅

海域を除いてほぼ一様な分布を示し、その差異は付着珪藻類の繁茂及び有機物の供給起源の違いを反映していると推察された。さらに、間隙水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度が底質上層から下層に向けて増加するのに対し、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は底質上層から下層に向けて減少する分布傾向を示した。また、春季及び夏季において満潮時と干潮時における値に差が見られ、これらの濃度の増減は、硝化及び脱窒作用の活性・不活性化に影響を及ぼすと推察された。

第 5 章では、有明海奥部の泥質干潟域において、脱窒菌群数及び底質環境因子について時空間的变化について検討、考察した。はじめに、有明海における海域環境悪化に対する対策及び研究や泥質干潟における浄化能の定量的評価の重要性を述べ、本章の意義や必要性について論じた。次に、有明海奥部泥質干潟域における脱窒特性を把握するための調査地点の設定、調査項目及び測定方法について説明した。そして、脱窒菌群や底質環境因子、脱窒速度、無機態窒素フラックス速度の季節変化を示し、底質中における脱窒作用のメカニズムについて論じた。

まず、採取した底質における脱窒菌群数と底質環境の季節変化について検討した。その結果、脱窒菌群数は秋季に大きく増加（平均 $1.1 \times 10^4 \text{cells/DG}$ ）し、春季に減少する季節変動を示した。また、冬季においても増加する傾向が見られ、泥温、Eh、有機物量、無機態窒素濃度などの底質環境因子については、**第 3 章**及び**第 4 章**の結果と同様の季節変動が確認された。脱窒速度の季節変化は、夏季から秋季にかけて増加し、冬季に減少する季節変動を示したものの、脱窒作用を担う脱窒菌群数との相関性 ($r=0.23$) は低く、これは脱窒菌群が通性嫌気性細菌であることに起因すると推察された。底質一直上水間の無機態窒素濃度のフラックス速度実験より、夏季に底泥から $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の溶出が見られた。また、 $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は季節を問わず底質へ取り込まれ、取込速度は夏季から秋季にかけて増加した。この $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度の取込量の増加は、脱窒速度の増加や間隙水中の $\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度の減少する時期と重なることから、底質中において脱窒作用が活性化したためによるものと推察された。

次に、脱窒菌群数及び底質環境因子の鉛直プロファイルの季節変化について検討を行った。その結果、脱窒菌群数は、底質表層及び深さ 4~6cm 付近で増加することが分かった。また、底質環境因子については、**第 4 章**の結果と同様の分布傾向が得られた。さらに、こ

ここで得られたデータを基に、泥質干潟における脱窒菌群数及び底質環境因子の鉛直プロフィールの概要が把握され、これは、Fan et al.¹⁾ が台湾北部 Tanshui 川河口底質で得た鉛直プロフィールと同様の傾向を示した。

第6章では、**第3章**及び**第5章**で得られた結果を基に、底質特性の違いと各季節の脱窒活性に影響を及ぼす環境因子について検討、考察した。はじめに、他海域において干潟の生態系や窒素収支など浄化機能に関する既往の研究について述べた。また、干潟における環境浄化能力の定量的評価において、脱窒活性に影響を及ぼす環境因子を解明する重要性を述べ、本章の意義や必要性について論じた。次に、本実験で得られた脱窒速度について他海域との比較を行い、脱窒活性に影響を及ぼす環境因子について論じた。

まず、**第3章**及び**第5章**で得られた脱窒速度と、他海域で同様の手法で測定された値とを比較、検討した。脱窒速度は全般的に沿岸域よりも干潟域において、砂質よりも泥質の干潟域において高くなる傾向が見られ、本実験で得られた値は他海域の値とオーダー的にほぼ等しい結果が得られた。

次に、**第3章**で得られた結果から、底質特性と脱窒速度との関連性について検討した結果、全体的に砂質干潟における相関性 ($r=0.20\sim 0.62$) が高く、泥質干潟における相関性 ($r=0.07\sim 0.10$) が低かった。これより、季節的な傾向を考慮していないが、泥質干潟における脱窒作用は、砂質干潟と比較して環境因子がより複雑に関与していると推察された。この結果を受け、**第5章**で得られた結果から、泥質干潟における脱窒速度を始めとする底質環境因子の関連性について検討した。その結果、脱窒速度は $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ フラックス速度との間に有意な相関性 ($r=0.51$, $P<0.01$) が見られ、その他の環境因子との相関性 ($r = 0.05\sim 0.31$) は低かった。他にも Eh と間隙水中の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度、間隙水中の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度及び $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度などの間にも相関性が見られた。さらに詳細な検討を行うため、季節変化が及ぼす脱窒速度と環境因子との関連性について検討した結果、各季節によって脱窒速度との相関性は大きく異なった。脱窒菌群数と脱窒速度との相関性は、春季 ($r=0.53$) にやや見られるものの、冬季でほとんど相関性が見られなかった。これは、冬季における脱窒菌群の増殖が、嫌気呼吸である脱窒ではなく、好気呼吸によるものであったことを示唆した。このように、脱窒作用には底質中の種々の環境因子が複雑に関与し、その度合いは

季節によって大きく異なることが分かった。しかし、脱窒速度は、Org.-C、C/N 比、 $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度に大きく左右されることが推察された。特に、有機物量が豊富な有明海においては、間隙水中 $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- - \text{N}$ 濃度が脱窒速度を律速する制限因子となっていることが推察された。

以上、本論文では、有明海の環境浄化機能を大きく支えている脱窒作用に着目し、1. 有明海奥部干潟域における脱窒菌群の生息分布と底質環境との関連性、2. 有明海奥部に広がる典型的な泥質干潟における脱窒活性と底泥環境との関連性について検討、考察した。その結果、有明海奥部の広域的な脱窒菌群数の分布状況が明らかにされ、脱窒菌群数の季節変化や脱窒菌群数と底質環境との関連性が明らかにされた。また、泥質干潟における脱窒菌群数、脱窒速度、底質環境 (Org.-C, Org.-N, Eh, 泥温, 含水比) 及び間隙水中の無機態窒素濃度の季節変化が明らかにされた。次いで、脱窒速度と各測定・分析項目との相関性を求め、泥質干潟における脱窒速度の主な律速因子について明らかにされた。

本研究で得られた知見は、今後の有明海の干潟域底質内の窒素循環、あるいは浄化能を究明する上で、貴重な基礎データになるものと考えられる。しかし、本研究では有明海における窒素循環の素過程の 1 つを解明したに過ぎず、窒素循環の全容を究明するデータの集積に至っていない。有明海干潟域底質内の窒素循環メカニズムの解明とモデル化には、これまでと同様に年間を通じた現地調査により、干潟域底質内の温熱環境と酸化還元環境の詳細な鉛直構造を把握することや、室内実験等より窒素循環の素過程の律速因子を明らかにし、定式化する必要がある。

そこで、今後の研究課題として主に次の事項が挙げられる。

- 1) 年間を通じた現地調査より、泥質干潟域底質内の温熱環境及び酸化還元環境の日ないし季節的な鉛直構造の変化を明らかにする。
- 2) 1) の現地調査と並行して同じ調査地点の底質間隙水中の窒素分布量の日ないし季節的变化を明らかにすると同時に、その変動特性と底質環境及び生物活動との関連性について検討する。
- 3) 1), 2) の結果に基づき、干潟域底質内の窒素循環メカニズムを明らかにし、生化学的

モデルの構築を行う。

本論文の研究対象である脱窒及び窒素収支は、干潟域における環境浄化作用を定量的に評価する上で、極めて重要な生化学的現象であり、これは海域における生物環境及び漁業にも多大な影響を及ぼす。したがって、その研究意義は大きい。近年、問題とされている有明海における環境異変の改善策として、干潟の浄化能力の定量的評価及び詳細なメカニズムの解明が強く望まれる。最後に、干潟の持つ能力や機能の重要性が社会的に再認識され、環境への関心がさらに高まることを切望する。

謝辞

本論文は、著者が鹿児島大学大学院連合農学研究科における研究成果を取りまとめたものである。

本論文の作成にあたり、懇切丁寧なご指導と格別のご鞭撻を賜った佐賀大学農学部の瀬口昌洋教授に、深甚なる感謝を捧げる。また、学部4年から現在に至るまで、終始細やかなご助言を賜った郡山益実助教に、心より感謝申し上げます。

佐賀大学農学部の田中明教授、鹿児島大学農学部の粕井和朗教授、中川啓准教授、琉球大学農学部の吉永安俊教授、そして甲本達也博士（前 佐賀大学農学部教授）には、副査として多大なるご助言を頂いた。細部にわたるきめ細かいご指導及び様々な視点からのご指摘により、本論文を完成させることができた。深く感謝申し上げます。

指導教官である瀬口昌洋教授には、2005年に佐賀大学に発足した有明海総合研究プロジェクトにおいて、そのコア研究の一つである「陸域～干潟～沖合域の物質循環機構の解明」の調査・研究に携わる機会を与えて頂いた。海上での水質・底質調査について基礎から学ぶことができただけでなく、多くの研究者の方々と交流を持てたのは、著者にとって非常に貴重な経験であった。特に、プロジェクト専任の速水祐一准教授、山口大学工学部の山本浩一准教授には、分析手法から水質・底質環境に関する知見、研究内容に至るまで、多岐にわたり有益な助言を頂いた。Alim Isnansetyo 研究員には、土壌微生物に関する貴重な資料を頂き、土壌微生物の様々な培養・検出法などを指導して頂いた。厚くお礼申し上げます。

本研究を進めるにあたり、多くの方々にお世話になった。加藤地域環境研究所所長の加藤治博士（佐賀大学名誉教授）には、学部在籍時より定期的なご支援及び温かい励ましを頂き、研究への意欲や活力を与えて下さった。佐賀大学農学部の原口智和准教授、近藤文義准教授には、日頃より研究・論文の進行状況を気にかけて頂き、多くの助言と励ましを頂いた。佐賀県有明海漁業協同組合東与賀支所の漁民の皆様には、干潟での作業を見守って頂き、多くの意見や励ましを頂いた。心より感謝申し上げます。

調査・研究の実施に際しては、野田美幸氏（現 榊タカギ）を始めとする大学院生達及び4年生諸氏の多大な協力を受けた。潮汐に合わせた変則的な時間、長時間にわたる地味な作業、泥質干潟などの調査の困難な観測地など、厳しい研究環境下にも関わらず、協力し支えて下さった同研究グループの皆様には、心よりお礼申し上げます。また、ゼミ等で議論を交わし、新しい見解を与えて下さった研究室の他の皆様にも感謝する。特に、著者のパソコンを常に良好な状態に保って下さった石谷哲寛氏、学位論文作成にあたり常に励まし協力して下さいました申龍熙氏には、時期を前後して博士課程に進み、学位取得を目指し互いに切磋琢磨できたことも含めて、心より感謝する。

また、経済的な援助として、平成17～20年度科学研究費補助金（基盤研究（B）、代表：瀬口昌洋）及び佐賀大学有明海総合研究プロジェクトより、資金援助を受けた。これを付記し、深謝申し上げます。

研究活動における心構えなどをご教示頂いた、有明工業高等専門学校物質工学科の氷室昭三教授には、著者の佐賀大学への編入学や専攻分野の変更などについて、多大なるご迷惑とご心配をおかけした。このことを謝罪すると共に、研究者としての道を志すきっかけを与えて下さったことに、心より感謝申し上げます。また、Texas A&M Universityの徳本家康博士には、高専在学時から現在まで、公私共に相談に乗って頂き多くの助言を受けた。研究や学問に対する真摯な姿勢には学ぶべき点が多く、多大な影響を受けた。今後も、目標とさせて頂きたい。

著者が博士課程への進学に対し、理解と献身的な協力を頂いた両親、祖父、兄に深謝する。著者が学位取得することを切望していた祖母の故サツキには、一方ならぬ励ましを頂き、その思いに支えられて研究を続けることができた。また、研究が行き詰った際に、励まし支えてくれた友人達にも感謝する。

これらの方々のご理解、ご協力なくして本論文は完成しえなかった。これまでお世話になった全ての方々に改めて謝意を表する。

2010年1月 古賀 あかね

参考文献

第1章

- 1) 日本生態系協会 (1998) : 自然生態系を守るための法制度, 環境を守る最新知識, 日本生態系協会編, 信山社サイテック, 東京, 102-135
- 2) 桜井善雄 (1994) : 水辺ビオトープの保全, 水辺ビオトープ—その基礎と事例, 自然環境復元研究会, 信山社サイテック, 東京, 1-6
- 3) 環境省自然環境局野生生物課 (2008) : 日本のラムサール条約湿地—豊かな自然・多様な湿地の保全と賢明な利用, 環境省, 東京, 2-43
- 4) (株)セルコ (2006) : 干潟の環境特性, 平成 17 年度環境省請負調査報告書—干潟生態系に関する環境影響評価のあり方, 環境省総合環境政策局環境影響評価課, 東京, 7-28
- 5) 日本陸水学会 (2006) : 干潟, 陸水の事典, 日本陸水学会編, 講談社, 東京, 392-393
- 6) 環境庁自然保護局編 (1997) : 第 1 巻干潟, 日本の干潟・藻場・サンゴ礁の現況, (財)海中公園センター, 東京, 291
- 7) 佐々木克之, 松川康夫, 東 幹夫, 田北 徹 (2005) : 有明海における物質循環と生物生産の特徴, 有明海の生態系再生をめざして, 日本海洋学会編, 恒星社厚生閣, 東京, 1-38
- 8) 青山恒雄 (1977) : 漁業振興の立場からみた湾内水の流動と問題点 I—有明海の流動と漁業, 沿岸海洋研究ノート, **14**, 36-41
- 9) 代田昭彦 (1980) : 有明海の栄養塩類とニゴリの特性, 海洋科学, **12**, 127-137
- 10) 松川康夫, 程木義邦, 経塚雄策, 佐々木克之, 東 幹夫 (2005) : 有明海環境異変とその要因, 有明海の生態系再生を目指して, 日本海洋学会編, 恒星社厚生閣, 東京, 49-104
- 11) 菊池泰二 (1993) : 干潟生態系の特性と保全の意義, 日生態会誌, **43**, 223-235
- 12) 柳 哲雄, 阿部良平 (2006) : 有明海奥部における 1979 年と 1999 年の窒素収支の変化, 海の研究, **15** (1), 67-75
- 13) 千賀有希子, 渡辺泰徳 (2009) : 汚濁池沼への空気供給が窒素および炭素動態に与える

影響, 地球環境研究, **11**, 95-102

- 14) 宇野木早苗 (2006) : 宝の海を取りもどすために, 有明海の自然と再生, 築地書館, 東京, 240-251
- 15) 農林水産省 (2002) : 有明海 30 年の推移のとりまとめ結果, 有明海の現状について, ノリ第3者委員会資料
- 16) 佐々木克之, 程木義邦, 村上哲生 (2003) : 諫早湾調整池からの COD・全窒素・全リンの排出量および失われた浄化量の推定, 海の研究, **12** (6), 573-591
- 17) 佐々木克之 (1989) : 干潟域の物質循環, 沿岸海洋研究ノート, **26**, 172-190
- 18) 木村賢史, 島津輝之, 赤沢豊, 三好康彦, 紺野良子, 大島菜緒子 (1992) : 人工海浜 (干潟) の浄化機能について, 東京都環境科学研究所年報, 89-100
- 19) 清水徹, 平岡喜代典, 李正奎, 西嶋渉, 向井徹雄, 瀧本和人, 岡田光正 (1998) : 広島湾における干潟の水質浄化機能に関する研究—有機物の分解特性について, 水環境学会誌, **21** (7), 421-428

第2章

- 1) 小池勲夫, 向井 宏, 菊池永祐 (2000) : 生物群集の組成・現存量及び代謝活性, 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際, 小池勲夫編, 産業環境管理境界, 東京, 105-139
- 2) Sørensen, J. (1978) : Denitrification rates in a marine sediment as measured by the acetylene inhibition technique, *Appl. Environ. Microbiol.*, **36** (1), 139-143
- 3) Knowles, R. (1990) : Acetylene inhibition technique; Development, advantage, and potential problems, In; Denitrification in Soil and Sediment, Revesbech, N.P. and Sørensen, J. eds., Plenum Press, New York, 151-166
- 4) Messer, J. and Brezonik, P.L. (1983) : Comparison of denitrification rate estimation techniques in a large, shallow lake, *Water Res.*, **17**, 631-640
- 5) 上田真吾, 小倉紀雄 (1989) : 手賀沼における底泥の脱窒活性と沼の浄化に果たす役割, *Jpn. J. Limnol.*, **50**, 15-24

- 6) Kasper, H.F. (1982) : Denitrification in marine sediment: measurement of capacity and estimate of *in situ* rate, *Appl. Environ. Microbiol.*, **43** (3) , 522-527
- 7) 黒田伸郎 (1997) : 干潟の脱窒速度の測定について, 愛知県水産試験場研究報告, **4**, 49-56
- 8) Golet, D.S. and Ward, B.B. (2001) : Vertical distribution of denitrification potential, denitrifying bacteria, and benzoate utilization in intertidal microbial mat communities, *Microb. Ecol.*, **42**, 22-34
- 9) Hou, L.J., Liu, M., Xu, S.Y., Ou, D.N., Yu, J., Cheng, S.B., Lin, X. and Yang, Y. (2007) : The effects of semi-lunar spring and neap tidal change on nitrification, denitrification and N₂O vertical distribution in the intertidal sediments of the Yangtze estuary, China, *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **73**, 607-616
- 10) Kieskamp, W.M., Lohse, L., Epping, E. and Helder, Willem (1991) : Seasonal variation in denitrification rates and nitrous oxide fluxes in intertidal sediments of the western Wadden Sea, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **72**, 145-151
- 11) Kim, D.H., Matsuda, O. and Yamamoto, T. (1997) : Nitrification, denitrification and nitrate reduction rates in the sediment of Hiroshima Bay, Japan, *Journal of Oceanography*, **53**, 317-324
- 12) 岩橋良憲, 登 千江子, 丸山 繁, 古川憲治 (2000) : 脱窒能に着目した干潟の浄化能の評価, 日本水処理生物学会誌, **36** (3), 153-159
- 13) 駒田充生, 竹内 誠 (1999) : 土壌を含む気液平衡系における亜酸化窒素溶解度, 日本土壌肥料学会誌, **70** (6), 804-807
- 14) 土壌微生物研究会 (1992) : 脱窒作用の測定と脱窒菌の計数, 分離, 新編土壌微生物実験法, 土壌微生物研究会編, 養賢堂, 東京, 215-
- 15) 土壌微生物研究会 (1992) : 土壌細菌の計数, 分離, 同定, 新編土壌微生物実験法, 土壌微生物研究会編, 養賢堂, 東京, -53
- 16) 須藤隆一編 (1987) : 底泥の微生物実験法, 環境微生物実験法, 須藤隆一編, 講談社, 東京,
- 17) Jørgensen, B.B. and Richardson, K. eds. (1996) : Eutrophication in Coastal Marine Ecosystems,

- In; Coastal and Estuarine Studies, American Geophysical Union, Washington, D.C.
- 18) Wollast, R. (1991) : The coastal organic carbon cycle; fluxes, sources, and sinks, In; Ocean Margin Processes in Global Change, Mantoura, R. F. C., Martin, J. M. and Wollast, R. eds., John Wiley & Sons, Chichester, 365-381
 - 19) 金 道熙, 山本民次, 松田 治 (1995) : 広島湾底泥からの無機態窒素溶出フラックスの見積もり, 広島大学生物生産学紀要, **34**, 185-190
 - 20) 山本民次, 松田 治, 橋本俊也, 妹背秀和, 北村智顕 (1998) : 瀬戸内海底泥からの溶存無機態窒素およびリン溶出量の見積もり, 海の研究, **7** (3), 151-158
 - 21) 信澤雄一郎, 村上和男, 北村友裕, 小泉俊昌, 亀山 豊, 小松勝久 (2005) : 横浜港の底泥からの栄養塩の溶出と覆砂の効果に関する現地調査と室内実験, 海洋開発論文集, **21**, 737-742
 - 22) Welsh, D.T., Bartoli, M., Nizzolo, D., Castaldelli, G., Riou, S.A. and Viaroli, P. (2000) : Denitrification, nitrogen fixation, community primary productivity and inorganic-N and oxygen fluxes in an intertidal *Zostera noltii* meadow, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **208**, 65-77
 - 23) Asmus, R.M., Jensen, M.H., Jensen, K.M., Kristensen, E., Asmus, H. and Wille, A. (1998) : The role of water movement and spatial scaling for measurement of dissolved inorganic nitrogen fluxes in intertidal sediments, *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **46**, 221-232
 - 24) 左山幹雄 (2000) : 堆積物表層における窒素循環過程, 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際, 小池勲夫編, 産業環境管理境界, 東京, 56-60
 - 25) 左山幹雄, 栗原 康 (1988) : 底泥の微生物の物質代謝, 河口・沿岸域の生態学とエコテクノロジー, 栗原 康編, 東海大学出版会, 東京, 32-42
 - 26) 環境庁水質保全局水質管理課 (2001) : 底質調査方法, 環境庁, 東京 4-20

第3章

- 1) Tamaki, A. and Kikuchi, T. (1983) : Spatial arrangement of macrobenthic assemblages on an intertidal sand flat, Tomioka Bay, west Kyushu, *Publ. Amakusa Mar. Biol. Lab.*, **7**, 41-60
- 2) 佐賀県保健環境部 (1979) : 昭和 53 年度有明海栄養塩類収支挙動調査ー有明海浮泥に

関する調査研究報告書，佐賀県

- 3) 宇野木早苗 (2006) : 宝の海であった有明海，有明海の自然と再生，築地書館，東京，51-61
- 4) 佐藤正典，田北 徹 (2000) : 有明海の生物相と環境，有明海の生きものたち，佐藤正典編，海游舎，東京，10-35
- 5) 日本陸水学会 (2006) : 干潟，陸水の事典，日本陸水学会編，講談社，東京，392-393
- 6) 佐々木克之 (2005) : 開発行為，有明海の生態系再生を目指して，日本海洋学会編，恒星社厚生閣，39-48
- 7) 菊池泰二 (2000) : 干潟浅海系の保全の意義，有明海の生きものたち，佐藤正典編，海游舎，306-317
- 8) 川村嘉応 (2002) : 佐賀県有明海域におけるノリの生産状況と環境変化，ノリと海藻，**64**，4-9
- 9) 水産庁九州漁業調整事務所 (2003) : 年次別赤潮発生件数，平成 14 年九州海域の赤潮，9
- 10) 梶原義範，宮田友幸，中野拓治，磯部雅彦 (2003) : 有明海奥部西岸域における 2002 年夏季の貧酸素水塊の発生状況について，土木学会論文集，**747** (II-65)，187-196
- 11) 中山哲巖，佐伯信哉，時吉 学，木本克則 (2003) : 有明海北西部で発生する貧酸素水塊に着目した現地調査，海岸工学論文集，**50**，976-980
- 12) 佐賀県 (2000) : 有明海海況概要資料，10
- 13) 農林水産省有明海ノリ不作等対策関係調査検討委員会 (2003)，最終報告書－有明海の漁業と環境の再生を願って，農林水産省
- 14) 佐々木克之，程木義邦，村上哲生 (2003) : 諫早湾調整池からの COD・全窒素・全リンの排出量および失われた浄化量の推定，海の研究，**12** (6)，573-591
- 15) 柳 哲雄，阿部良平 (2005) : 有明海奥部における塩分と DIP・DIN 収支の経年変化，海の研究，**14** (1)，21-33
- 16) 柳 哲雄，阿部良平 (2006) : 有明海奥部における 1979 年と 1999 年の窒素収支の変化，海の研究，**15** (1)，67-75

- 17) 安岡澄人, 石川知樹, 中野拓治, 白谷栄作, 中田喜三郎 (2005) : 有明海泥質干潟・浅海域における底泥窒素循環の特性—塩田川・鹿島川河口域における現地調査及び室内試験結果, *海洋理工学会誌*, **11** (1), 59-66
- 18) 李 正奎, 西嶋 渉, 向井徹雄, 滝本和人, 清木 徹, 平岡喜代典, 岡田光正 (1998) : 自然および人口干潟の有機物浄化能の定量化と広島湾の浄化に果たす役割, *水環境学会誌*, **21** (3), 149-156
- 20) 清木 徹, 平岡喜代典, 李 正奎, 西嶋 渉, 向井徹雄, 滝本和人, 岡田光正 (1998) : 広島湾における干潟の水質浄化能に関する研究—有機物の分解特性について, *水環境学会誌*, **21** (7), 421-428
- 21) 小池勲夫, 向井 宏, 菊池永祐 (2000) : 生物群集の組成・現存量及び代謝活性, 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際, 小池勲夫編, 産業環境管理境界, 東京, 105-139
- 22) Sørensen, J. (1978) : Denitrification rates in a marine sediment as measured by the acetylene inhibition technique, *Appl. Environ. Microbiol.*, **36** (1), 139-143
- 23) 岩橋良憲, 登 千江子, 丸山 繁, 古川憲治 (2000) : 脱窒能に着目した干潟の浄化能の評価, *日本水処理生物学会誌*, **36** (3), 153-159
- 24) 駒田充生, 竹内 誠 (1999) : 土壌を含む気液平衡系における亜酸化窒素溶解度, *日本土壤肥料学会誌*, **70** (6), 804-807
- 25) 戸原義男, 渡辺 潔, 加藤 治, 瀬口昌洋 (1989) : 有明海の潮流と拡散, 混合に関する研究—有明海湾奥海域の還流, 第27回海岸工学講演会論文集, 483-486
- 26) 古賀あかね, 瀬口昌洋, 郡山益実 (2009) : 有明海奥部干潟域における脱窒菌群の生息分布と脱窒活性, *農業農村学会論文集*, **77** (2), 121-128
- 27) 李 正奎, 西嶋 渉, 向井徹雄, 滝本和人, 清木 徹, 平岡喜代典, 岡田光正 (1997) : 自然および人口干潟における構造と有機物分解能の比較—広島湾におけるケーススタディ, *水環境学会誌*, **20** (3), 175-184
- 28) Van Es, F.B. (1982) : Community metabolism of intertidal flats in the EMS-Dollard Estuary, *Marine Biology*, **66**, 95-108

- 29) Hopkinson, C.S. (1987) : Nutrient regeneration in shallow water sediments of the estuarine plume region of the nearshore Georgia Bight, USA., *Mar. Biol.*, **94**, 127-142
- 30) Liu, M., Hou, L.J., Xu, S. Y., Ou, D.N., Yang, Y., Yu, J. and Wang, Q. (2006) : Organic carbon and nitrogen stable isotopes in the intertidal sediments from the Yangtze Estuary, China, *Marine Pollution Bulletin*, **52**, 1625-1633
- 31) 代田昭彦 (1980) : 有明海の栄養塩類とニゴリの特性, *海洋科学*, **12** (2), 133
- 32) Vanderborght, J.P. and Billen, G. (1975) : Vertical distribution of nitrate concentration in interstitial water of marine sediment with nitrification and denitrification, *Limnol. Oceanogr.*, **20**, 953-961

第4章

- 1) Laima, M., Brossard, P.-G., Sauriau, M., Girard, P., Richard, D., Gouleau, D. and Joassard, L. (2002) : The influence of long emersion on biota, ammonium fluxes and nitrification in intertidal sediments of Marennes-Oleron Bay, France, *Marine Environmental Research*, **53**, 381-402
- 2) Hou, L.J., Liu, N., Xu, S.Y., Ou, D.N., Yu, J., Cheng, S.B., Lin, X. and Yang, Y. (2007) : The effects of semi-lunar spring and neap tidal change on nitrification, denitrification and N₂O vertical distribution in the intertidal sediments of the Yangtze estuary, China, *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **73**, 607-616
- 3) 児玉真史, 松永信博, 水田健太郎 (2000) : 干潟底泥－海水間の栄養塩フラックスに関する現地観測, 第47回海講論文集, 1126-1130
- 4) Hopkinson, C.S. (1987) : Nutrient regeneration in shallow water sediments of the estuarine plume region of the nearshore Georgia Bight, USA., *Mar. Biol.*, **94**, 127-142
- 5) 徳永貴久, 高橋 篤, 松永信博 (2007) : 有明海湾奥部干潟底泥の NH₄⁺吸着特性, 水工学論文集, **51**, 1309-1314
- 6) 安岡澄人, 石川知樹, 中野拓治, 白谷栄作, 中田喜三郎 (2005) : 有明海泥質干潟・浅海域における底泥窒素循環の特性－塩田川・鹿島川河口域における現地調査及び室内

- 試験結果, 海洋理工学会誌, **11** (1), 59-66
- 7) 門谷 茂 (1999) 沿岸浅海域における物質循環－潮下帯から河口干潟まで, 水環境学会誌, **22** (7), 533-538
 - 8) Montani, S., Magni, P., Shimamoto, M., Abe, N. and Okutani, K. (1998) : The effect of a tidal cycle on the dynamics of nutrients in a tidal estuary in the Seto Inland Sea, Japan, *J. Oceanography*, **54**, 65-76
 - 9) 野村宗弘, 中村由行 (2002) : 盤州干潟における潮汐に伴う水質変動に関する現地観測, 水環境学会誌, **25** (4), 217-225
 - 10) 土壤微生物研究会 (1975) : MPN 法, 土壤微生物実験法, 土壤微生物研究会編, 養賢堂, 東京, 45-53
 - 11) 環境庁水質保全局水質管理課編 (2001) : 底質調査方法, 環境庁, 東京, 45-48
 - 12) 千賀有希子, 渡辺泰徳 (2009) : 汚濁池沼への空気供給が窒素および炭素動態に与える影響, 地球環境研究, **11**, 95-102
 - 13) Höhener, P. and Gächter, R. (1994) : Nitrogen cycling across the sediment-water interface in an eutrophic, artificially oxygenated lake, *Aquat. Sci.*, **56**, 115-132
 - 14) Vanderborght, J.P. and Billen, G. (1975) : Vertical distribution of nitrate concentration in interstitial water of marine sediment with nitrification and denitrification, *Limnol. Oceanogr.*, **20**, 953-961
 - 15) 左山幹雄, 栗原 康 (1988) : 底泥の微生物の物質代謝, 河口・沿岸域の生態学とエコテクノロジー, 栗原 康編, 東海大学出版会, 東京, 32-42
 - 16) 中田喜三郎, 寺澤知彦 (2000) : 海底境界層をめぐる生元素循環のモデル化, 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際, 小池勲夫編, 産業環境管理協会, 東京, 161-190
 - 17) 西尾道徳 (1989) : 土壤微生物の基礎知識, 農山漁村文化協会, 東京, 74-75
 - 18) 佐賀県有明水産振興センター : 有明海等における赤潮発生情報 (第9報), オンライン http://ay.fish-jfrca.jp/akashio/ariake/heimen/akashio_h19_09.asp
 - 19) Nedwell, D.B., Jickells, T.D., Trimmer, M. and Sanders, R. (1999) : Nutrients in estuaries, In:

第5章

- 1) Wollast, R. (1991) : The coastal organic carbon cycle; fluxes, sources, and sinks, In; Ocean Margin Processes in Global Change, Mantoura, R.F.C., Martin, J.M. and Wollast, R. eds., John Wiley & Sons, Chichester, 365-381
- 2) Cabrita M. . and Brotas V. (2000) : Seasonal variation in denitrification and dissolved nitrogen fluxes in intertidal sediments of the Tagus estuary, Portugal, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **202**, 51-65
- 3) 代田昭彦 (1982) : デトリタスと水産の関係, *海洋科学*, **14**, 473-481
- 4) 農林水産省有明海ノリ不作等対策関係調査検討委員会 (2003), 最終報告書ー有明海の漁業と環境の再生を願って, 農林水産省
- 5) 関口秀夫, 石井 亮 (2003) : 有明海の環境異変ー有明海のアサリ漁獲量激減の原因について, *海の研究*, **12** (1), 21-36
- 6) 藤原考道, 経塚雄策, 濱田孝治 (2003) : 有明海における潮汐・潮流減少の原因について, *海の研究*, **12** (4), 21-36
- 7) 郡山益実, 瀬口昌洋, 石谷哲寛 (2008) : ボックスモデルによる有明海奥部西岸域の貧酸素水塊の発生機構の検討, *農業農村工学会論文集*, **76** (3), 41-49
- 8) 柳 哲雄, 阿部良平 (2006) : 有明海における 1979 年と 1999 年の窒素収支の変化, *海の研究*, **15** (1), 67-75
- 9) 清木 徹, 平岡喜代典, 李 正奎, 西嶋 涉, 向井徹雄, 滝本和人, 岡田光正 (1998) : 広島湾における干潟の水質浄化能に関する研究ー有機物の分解特性について, *水環境学会誌*, **21** (7), 421-428
- 10) 李 正奎, 西嶋 涉, 向井徹雄, 滝本和人, 清木 徹, 平岡喜代典, 岡田光正 (1997) : 自然および人口干潟における構造と有機物分解能の比較ー広島湾におけるケーススタディ, *水環境学会誌*, **20** (3), 175-184
- 11) 木村賢史, 島津暉之, 赤沢 豊, 三好康彦, 紺野良子, 大島 菜緒子 (1992) : 人工海浜 (干潟) の浄化機能について, *東京都環境科学研究所年報*, 89-100

- 12) 川喜多英孝, 原田浩幸, 滝川 清 (2006) : 浚渫土壌を基盤とした人口干潟の水質浄化能力に関する研究, 佐賀大学有明総合研究プロジェクト成果報告集, **2**, 25-29
- 13) 桑江朝比呂, 細川恭史, 三好英一, 萩本幸将, 古川恵太 (1999) : メソコスム実験による水質変化に対する沿岸干潟生態系応答に関する研究, 平成 10 年度環境研究成果集, 環境庁企画調整局刊, 東京, 77-1~77-11
- 14) 青山裕晃, 今尾和正, 鈴木輝明 (1996) : 干潟域の水質浄化機能—一色干潟を例にして, 月刊海洋, **28**, 178-188
- 15) 児玉真史, 松永信博, 水田健太郎 (2000) : 干潟底泥—海水間の栄養塩フラックスに関する現地観測, 第 47 回海講論文集, 1126-1130
- 16) 神山孝史, 玉井恭一, 辻野 睦 (1997) : 海底堆積物からの栄養塩再生産過程に及ぼす底質・溶存酸素条件, 南西水研研報, **30**, 209-218
- 17) 山本民次, 松田 治, 橋本俊也, 妹背秀和, 北村智顕 (1998) : 瀬戸内海底泥からの溶存無機態窒素およびリン溶出量の見積もり, 海の研究, **7** (3), 151-158
- 18) 土壤微生物研究会 (1975) : MPN 法, 土壤微生物実験法, 土壤微生物研究会編, 養賢堂, 東京, 45-53
- 19) 小池勲夫, 向井 宏, 菊池永祐 (2000) : 生物群集の組成・現存量及び代謝活性, 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際, 小池勲夫編, 産業環境管理協会, 東京, 105-139
- 20) Sørensen, J. (1978) : Denitrification rates in a marine sediment as measured by the acetylene inhibition technique, *Appl. Environ. Microbiol.*, **36** (1), 139-143
- 21) 信澤雄一郎, 村上和男, 北村友裕, 小泉俊昌, 小松勝久 (2005) : 横浜港の底泥からの栄養塩の溶出と覆砂の効果に関する現地調査と室内実験, 海洋開発論文集, **21**, 737-747
- 22) Welsh, D.T., Bartoli, M., Nizzolo, D., Castaldelli, G., Riou, S.A. and Viaroli, P. (2000) : Denitrification, nitrogen fixation, community primary productivity and inorganic-N and oxygen fluxes in an intertidal *Zostera noltii* meadow, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **208**, 65-77
- 23) Tian, G., Vose, J.M., Coleman, D.C., Geron, C.D. and Walker, J.T. (2004) : Evaluation of the effectiveness of riparian zone restoration in the southern Appalachians by assessing soil

- microbial populations, *Applied Soil Ecology*, **26**, 63-68
- 24) 上原洋一, 高井康雄 (1983) : 湛水土壌最表部における硝化脱窒過程の微視的手法による検討, 日本土壌肥科学雑誌, **54** (3), 241-246
- 25) 左山幹雄, 栗原 康 (1988) : 底泥の微生物の物質代謝, 河口・沿岸域の生態学とエコテクノロジー, 栗原 康編, 東海大学出版会, 東京, 32-42
- 26) Andrews, J.E., Greenaway, A.M. and Dennis, P.F. (1998) Combined carbon isotope and C/N ratios as indicators of source and fate of organic matter in a poorly flushed, tropical Estuary: Hunts Bay, Kingston Harbour, Jamaica. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **46**, 743-756
- 27) Matson, E.A. and Brinson, M.M. (1990) : Stable carbon isotopes and the C:N ratio in the estuaries of the Pamlico and Neuse rivers, North Carolina, *Limnology and Oceanography*, **35**, 1290-1300
- 28) Middelburg, J.J. and Nieuwenhuize, J. (1998) : Carbon and nitrogen stable isotope in suspended matter and sediments from the Schelde Estuary, *Marine Chemistry*, **60**, 217-225
- 29) 西尾道徳 (1989) : 土壌微生物の基礎知識, 農山漁村文化協会, 東京, 74-75
- 30) 中田喜三郎, 寺澤知彦 (2000) : 海底境界層をめぐる生元素循環のモデル化, 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際, 産業環境管理協会, 東京, 161-190
- 31) 佐々木克之, 松川康夫, 東 幹夫, 田北 徹 (2005) : 有明海における物質循環と生物生産の特徴, 有明海の生態系再生を目指して, 日本海洋学会編, 恒星社厚生閣, 東京, 1-38
- 32) 筑後川大堰管理所 : 筑後川管理情報—直下水量, オンライン
http://www.water.go.jp/chikugo/coozeeki/html/contents_2/manage_info_001/manage_info_001.html#1
- 33) 高井康雄, 上原洋一 (1973) : 水田土壌作土表層部における硝化脱窒過程に関する研究 (第1報), 日本土壌肥科学雑誌, **44** (12), 463-470
- 34) 左山幹雄, 小池勲夫 (2000) : 海底境界層における有機物の分解・無機化と栄養塩のフラックス, 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際, 小池勲夫編, 産業環境管理協会, 東京, 51-103

- 35) 安岡澄人, 石川知樹, 中野拓治, 白谷栄作, 中田喜三郎 (2005) : 有明海泥質干潟・浅海域における底泥窒素循環の特性—塩田川・鹿島川河口域における現地調査及び室内試験結果, 海洋理工学会誌, **11** (1), 59-66
- 36) Jørgensen, B.B. and Richardson, K. eds. (1996) : Eutrophication in Coastal Marine Ecosystems, In; Coastal and Estuarine Studies, American Geophysical Union, Washington, D. C., **52**
- 37) 河合 章 (1981) : 水域底泥からのアンモニア態窒素などの溶出, 沿岸海洋研究ノート, **18**, 106-111
- 38) Jørgensen, B.B. (1983) : Processes at the sediment-water interface, In; The Major Biogeochemical Cycles and Their Interactions, Bolin, B. and Cook, R. B. eds., John Wiley & Sons, New York, 477-509
- 39) Revsbech, N.P. and Jørgensen, B.B. (1986) : Microelectrodes; Their use in microbial ecology, In; Advances in Microbial Ecology, Marshall, K. C. eds., Plenum Press, New York, **9**, 293-352
- 40) Fan, L.F., Shieh, W.Y., Wu, W.F. and Chen, C.-P. (2006) : Distribution of nitrogenous nutrients and denitrifiers strains in estuarine sediment profiles of the Tanshui River, northern Taiwan, Estuarine, Coastal and Shelf Science, **69**, 543-553
- 41) Vanderborght, J.P. and Billen, G. (1975) : Vertical distribution of nitrate concentration in interstitial water of marine sediment with nitrification and denitrification, *Limnol. Oceanogr.*, **20** (6), 953-961
- 42) 瀬口昌洋, 郡山益実, 加藤 治 (2002) : 泥質干潟におけるマクロベントスの巣穴形成とその硝化・脱窒過程への影響, 水工学論文集, **46**, 1169-1174
- 43) Nedwell, D.B., Jickells, T.D., Trimmer, M. and Sanders, R. (1999) : Nutrients in estuaries, In: Adv. Ecol. Res., Nedwell, D. B. and Raffaelli, D. G. eds., **29**, 43-92
- 44) 上原洋一, 高井康雄 (1976) : 水田土壌作土表層部における硝化脱窒過程に関する研究 (第2報), 日本土壌肥料学雑誌, **47** (12), 542-548
- 45) Weier, K.L. and MacRae, I.C. (1992) : Denitrifying bacteria in the profile of a brigalow clay soil beneath a permanent pasture and a cultivated crop, *Soil Biology and Biochemistry*, **24** (9), 919-923

第6章

- 1) 佐々木克之 (1989) : 干潟域の物質循環, 沿岸海洋研究ノート, **26** (2), 172-190
- 2) 菊池泰二 (1993) : 干潟生態系の特性とその環境保全の意義, 日生態会誌, **43** (3), 223-235
- 3) 門谷 茂 (1999) : 沿岸浅海域における物質循環—潮下帯から河口干潟まで, 水環境学会誌, **22** (7), 533-538
- 4) 清木 徹, 平岡喜代典, 李 正奎, 西嶋 渉, 向井徹雄, 滝本和人, 岡田光正 (1998) : 広島湾における干潟の水質浄化能に関する研究—有機物の分解特性について, 水環境学会誌, **21** (7), 421-428
- 5) 清木 徹, 岡田光正 (1999) : 前浜干潟の水質浄化, 水環境学会誌, **22** (7), 527-532
- 6) Matsukawa, Y. and Sasaki, S. (1986) : Budget of nitrogen, phosphorus and suspended sand in an intertidal flat, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **52** (10), 1791-1797
- 7) Matsukawa, Y. Sato, Y. and Sasaki, S. (1987) : Benthic flux of nutrient salts on an intertidal flat, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53** (6), 985-989
- 8) 筧 茂穂, 藤原建紀, 山田浩且 (2005) : 伊勢湾における栄養塩現存量と収支の季節変化, 海の研究, **14** (4), 524-540
- 9) 谷本照巳, 星 加章, 三島康史, 柳 哲雄 (2001) : 大阪湾における懸濁物質・窒素・リンの収支と循環, 海の研究, **10** (5), 397-412
- 10) 佐々木克之 (1991) : プランクトン生態系と窒素・リン循環, 沿岸海洋研究ノート, **28** (2), 129-139
- 11) 柳 哲雄, 屋良由美子, 松村 剛, 石丸 隆 (2004) : 東京湾のリン・窒素循環に関する数値生態系モデル解析, 海の研究, **13** (1), 61-72
- 12) Matsukawa, Y. and Sasaki, K. (1990) : Nitrogen budget in Tokyo Bay with special reference to the low sedimentation to supply ratio, *J. Oceanogr.*, **46** (2), 44-54
- 13) 中田喜三郎, 畑 恭子 (1994) : 沿岸干潟における浄化機能の評価, 水環境学会誌, **17** (3), 158-166
- 14) 山口創一, 経塚雄策 (2006) : 諫早湾における貧酸素水塊の形成機構, 海の研究, **13** (6),

- 15) 郡山益実, 瀬口昌洋, 石谷哲寛 (2008) : ボックスモデルによる有明海奥部西岸域の貧酸素水塊の発生機構の検討, 農業農村工学会論文集, **76** (3), 41-49
- 16) 柳哲雄 (1997) : 東京湾, 伊勢湾, 大阪湾の淡水・塩分・DIP・DIN 収支, 沿岸海洋研究, **35** (1), 93-98
- 17) 長野 聡, 島崎洋平, 松原 賢, 紫加田知幸, 山崎康裕, 吉田幸史, 久野勝利, 大島雄治, 本城凡夫 (2009) : 有明海奥部, 塩田川河口海域における物理・化学的要因と植物プランクトンの増殖との関係, 沿岸海洋研究, **46** (2), 141-151
- 18) 滝川 清, 鈴木敦巳, 古川憲治, 大本照憲, 山田文彦 (1999) : 有明海の白川・緑川河口域における干潟環境特性とその評価に関する研究, 海岸工学論文集, **46**, 1121-1125
- 19) Nishio, T., Koike, I. and Hattori, A. (1982) : Denitrification, nitrate reduction, and oxygen consumption in coastal and estuarine sediments, *Appl. Environ. Microbiol.*, **43** (3), 648-653
- 20) 清木 徹, 伊達悦二, 岡田光正 (2008) : 干潟及び沿岸海底における脱窒と窒素固定, 日本水産学会誌, **74** (4), 678-687
- 21) Jørgensen, K.S. and Sørensen, J. (1988) : Two annual maxima of nitrate reduction and denitrification in estuarine sediment (Norsminde Fjord, Denmark), *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **48**, 147-154
- 22) Joye, S.B. and Paerl, H.W. (1994) : Nitrogen cycling in microbial mats: rates and patterns of denitrification and nitrogen fixation, *Mar. Biol.*, **119**, 285-295
- 23) Kasper, H.F. (1983) : Denitrification, nitrate reduction to ammonium, and inorganic nitrogen pools in intertidal sediment, *Marine Biology*, **74**, 133-139
- 24) Nielsen, L.P. and Glud, R.N. (1996) : Denitrification in a coastal sediment measured *in situ* by the nitrogen isotope pairing technique applied to a benthic flux chamber, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **137**, 181-186
- 25) 古賀あかね, 瀬口昌洋, 郡山益実 (2009) : 有明海奥部干潟域における脱窒菌群の生息分布と脱窒活性, 農業農村学会論文集, **77** (2), 121-128
- 26) 左山幹雄, 栗原 康 (1988) : 底泥の微生物の物質代謝, 河口・沿岸域の生態学とエコ

テクノロジー, 栗原 康編, 東海大学出版会, 東京, 32-42

- 27) Sørensen, J. Jørgensen, B.B and Revsbech, N.P. (1979) : A comparison of oxygen, nitrate, and sulfate respiration in coastal marine sediments, *Microb. Ecol.*, **5**, 105-115
- 28) Fan, L.F., Shieh, W.Y., Wu, W.F. and Chen, C.-P. (2006) : Distribution of nitrogenous nutrients and denitrifiers strains in estuarine sediment profiles of the Tanshui River, northern Taiwan, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **69**, 543-553
- 29) 左山幹雄 (2000) : 海底境界層における有機物の分解・無機化と栄養塩フラックス, 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際, 小池勲夫編, 産業環境管理協会, 東京, 51-103
- 30) Smith, C.J., Delaune, R.D. and Patrick, W.H.Jr. (1985) : Fate of riverine nitrate entering an estuary: I. Denitrification and nitrogen burial, *Estuaries*, **8** (1), 15-21
- 31) Jørgensen, K.S. and Sørensen, J. (1985) : Seasonal cycles of O₂, NO₃⁻ and SO₄²⁻ reduction in estuarine sediments: the significance of an NO₃⁻ reduction maximum in spring, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **24**, 65-74

第7章

- 1) Fan, L.F., Shieh, W.Y., Wu, W.F. and Chen, C.-P. (2006) : Distribution of nitrogenous nutrients and denitrifiers strains in estuarine sediment profiles of the Tanshui River, northern Taiwan, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **69**, 543-553

Ostwald 溶解度係数 (β) (0.0~19.9°C)

T (°C)	β (ml/ml)	T (°C)	β (ml/ml)	T (°C)	β (ml/ml)	T (°C)	β (ml/ml)
0.0	1.297	5.0	1.083	10.0	0.912	15.0	0.777
0.1	1.292	5.1	1.079	10.1	0.909	15.1	0.775
0.2	1.287	5.2	1.075	10.2	0.906	15.2	0.772
0.3	1.283	5.3	1.072	10.3	0.903	15.3	0.770
0.4	1.278	5.4	1.068	10.4	0.900	15.4	0.767
0.5	1.273	5.5	1.064	10.5	0.897	15.5	0.765
0.6	1.269	5.6	1.060	10.6	0.894	15.6	0.763
0.7	1.264	5.7	1.057	10.7	0.891	15.7	0.761
0.8	1.259	5.8	1.053	10.8	0.888	15.8	0.758
0.9	1.255	5.9	1.049	10.9	0.885	15.9	0.756
1.0	1.250	6.0	1.046	11.0	0.882	16.0	0.754
1.1	1.246	6.1	1.042	11.1	0.879	16.1	0.751
1.2	1.241	6.2	1.038	11.2	0.876	16.2	0.749
1.3	1.237	6.3	1.035	11.3	0.873	16.3	0.747
1.4	1.232	6.4	1.031	11.4	0.871	16.4	0.745
1.5	1.228	6.5	1.027	11.5	0.868	16.5	0.743
1.6	1.223	6.6	1.024	11.6	0.865	16.6	0.740
1.7	1.219	6.7	1.020	11.7	0.862	16.7	0.738
1.8	1.214	6.8	1.017	11.8	0.859	16.8	0.736
1.9	1.210	6.9	1.013	11.9	0.857	16.9	0.734
2.0	1.206	7.0	1.010	12.0	0.854	17.0	0.732
2.1	1.201	7.1	1.006	12.1	0.851	17.1	0.730
2.2	1.197	7.2	1.003	12.2	0.848	17.2	0.727
2.3	1.193	7.3	0.999	12.3	0.846	17.3	0.725
2.4	1.188	7.4	0.996	12.4	0.843	17.4	0.723
2.5	1.184	7.5	0.992	12.5	0.840	17.5	0.721
2.6	1.180	7.6	0.989	12.6	0.837	17.6	0.719
2.7	1.176	7.7	0.986	12.7	0.835	17.7	0.717
2.8	1.171	7.8	0.982	12.8	0.832	17.8	0.715
2.9	1.167	7.9	0.979	12.9	0.830	17.9	0.713
3.0	1.163	8.0	0.976	13.0	0.827	18.0	0.711
3.1	1.159	8.1	0.972	13.1	0.824	18.1	0.709
3.2	1.155	8.2	0.969	13.2	0.822	18.2	0.707
3.3	1.151	8.3	0.966	13.3	0.819	18.3	0.705
3.4	1.146	8.4	0.962	13.4	0.816	18.4	0.703
3.5	1.142	8.5	0.959	13.5	0.814	18.5	0.701
3.6	1.138	8.6	0.956	13.6	0.811	18.6	0.699
3.7	1.134	8.7	0.953	13.7	0.809	18.7	0.697
3.8	1.130	8.8	0.949	13.8	0.806	18.8	0.695
3.9	1.126	8.9	0.946	13.9	0.804	18.9	0.693
4.0	1.122	9.0	0.943	14.0	0.801	19.0	0.691
4.1	1.118	9.1	0.940	14.1	0.799	19.1	0.689
4.2	1.114	9.2	0.937	14.2	0.796	19.2	0.687
4.3	1.110	9.3	0.933	14.3	0.794	19.3	0.685
4.4	1.106	9.4	0.930	14.4	0.791	19.4	0.683
4.5	1.102	9.5	0.927	14.5	0.789	19.5	0.682
4.6	1.098	9.6	0.924	14.6	0.786	19.6	0.680
4.7	1.095	9.7	0.921	14.7	0.784	19.7	0.678
4.8	1.091	9.8	0.918	14.8	0.782	19.8	0.676
4.9	1.087	9.9	0.915	14.9	0.779	19.9	0.674

Ostwald 溶解度係数 (β) (20.0~39.9°C)

T (°C)	β (ml/ml)	T (°C)	β (ml/ml)	T (°C)	β (ml/ml)	T (°C)	β (ml/ml)
20.0	0.672	25.0	0.592	30.0	0.529	35.0	0.478
20.1	0.670	25.1	0.590	30.1	0.528	35.1	0.477
20.2	0.669	25.2	0.589	30.2	0.527	35.2	0.476
20.3	0.667	25.3	0.587	30.3	0.525	35.3	0.475
20.4	0.665	25.4	0.586	30.4	0.524	35.4	0.474
20.5	0.663	25.5	0.585	30.5	0.523	35.5	0.473
20.6	0.661	25.6	0.583	30.6	0.522	35.6	0.472
20.7	0.660	25.7	0.582	30.7	0.521	35.7	0.471
20.8	0.658	25.8	0.581	30.8	0.520	35.8	0.470
20.9	0.656	25.9	0.579	30.9	0.519	35.9	0.469
21.0	0.654	26.0	0.578	31.0	0.518	36.0	0.468
21.1	0.653	26.1	0.576	31.1	0.517	36.1	0.467
21.2	0.651	26.2	0.575	31.2	0.516	36.2	0.466
21.3	0.649	26.3	0.574	31.3	0.515	36.3	0.466
21.4	0.648	26.4	0.572	31.4	0.514	36.4	0.465
21.5	0.646	26.5	0.571	31.5	0.513	36.5	0.464
21.6	0.644	26.6	0.570	31.6	0.511	36.6	0.463
21.7	0.642	26.7	0.569	31.7	0.510	36.7	0.462
21.8	0.641	26.8	0.567	31.8	0.509	36.8	0.461
21.9	0.639	26.9	0.566	31.9	0.508	36.9	0.460
22.0	0.637	27.0	0.565	32.0	0.507	37.0	0.459
22.1	0.636	27.1	0.563	32.1	0.506	37.1	0.458
22.2	0.634	27.2	0.562	32.2	0.505	37.2	0.457
22.3	0.633	27.3	0.561	32.3	0.504	37.3	0.456
22.4	0.631	27.4	0.560	32.4	0.503	37.4	0.455
22.5	0.629	27.5	0.558	32.5	0.502	37.5	0.455
22.6	0.628	27.6	0.557	32.6	0.501	37.6	0.454
22.7	0.626	27.7	0.556	32.7	0.500	37.7	0.453
22.8	0.625	27.8	0.555	32.8	0.499	37.8	0.452
22.9	0.623	27.9	0.553	32.9	0.498	37.9	0.451
23.0	0.621	28.0	0.552	33.0	0.497	38.0	0.450
23.1	0.620	28.1	0.551	33.1	0.496	38.1	0.449
23.2	0.618	28.2	0.550	33.2	0.495	38.2	0.448
23.3	0.617	28.3	0.549	33.3	0.494	38.3	0.447
23.4	0.615	28.4	0.547	33.4	0.493	38.4	0.446
23.5	0.614	28.5	0.546	33.5	0.492	38.5	0.446
23.6	0.612	28.6	0.545	33.6	0.491	38.6	0.445
23.7	0.611	28.7	0.544	33.7	0.490	38.7	0.444
23.8	0.609	28.8	0.543	33.8	0.489	38.8	0.443
23.9	0.608	28.9	0.541	33.9	0.488	38.9	0.442
24.0	0.606	29.0	0.540	34.0	0.487	39.0	0.441
24.1	0.605	29.1	0.539	34.1	0.486	39.1	0.440
24.2	0.603	29.2	0.538	34.2	0.485	39.2	0.439
24.3	0.602	29.3	0.537	34.3	0.484	39.3	0.438
24.4	0.600	29.4	0.536	34.4	0.483	39.4	0.437
24.5	0.599	29.5	0.534	34.5	0.482	39.5	0.437
24.6	0.597	29.6	0.533	34.6	0.481	39.6	0.436
24.7	0.596	29.7	0.532	34.7	0.481	39.7	0.435
24.8	0.594	29.8	0.531	34.8	0.480	39.8	0.434
24.9	0.593	29.9	0.530	34.9	0.479	39.9	0.433

MPN 表 (10 倍希釈 - 5 連)

P ₁	P ₂	P ₃					
		0	1	2	3	4	5
0	0	—	0.018	0.036	0.054	0.072	0.090
0	1	0.018	0.036	0.055	0.073	0.091	0.11
0	2	0.037	0.055	0.074	0.092	0.11	0.13
0	3	0.056	0.074	0.093	0.11	0.13	0.15
0	4	0.075	0.094	0.11	0.13	0.15	0.17
0	5	0.094	0.11	0.13	0.15	0.17	0.19
1	0	0.020	0.040	0.060	0.080	0.10	0.12
1	1	0.040	0.061	0.081	0.10	0.12	0.14
1	2	0.061	0.082	0.10	0.12	0.15	0.17
1	3	0.083	0.10	0.13	0.15	0.17	0.19
1	4	0.11	0.13	0.15	0.17	0.19	0.22
1	5	0.13	0.15	0.17	0.19	0.22	0.24
2	0	0.045	0.068	0.091	0.12	0.14	0.16
2	1	0.068	0.092	0.12	0.14	0.17	0.19
2	2	0.093	0.12	0.14	0.17	0.19	0.22
2	3	0.12	0.14	0.17	0.20	0.22	0.25
2	4	0.15	0.17	0.20	0.23	0.25	0.28
2	5	0.17	0.20	0.23	0.26	0.29	0.32
3	0	0.078	0.11	0.13	0.16	0.20	0.23
3	1	0.11	0.14	0.17	0.20	0.23	0.27
3	2	0.14	0.17	0.20	0.24	0.27	0.31
3	3	0.17	0.21	0.24	0.28	0.31	0.35
3	4	0.21	0.24	0.28	0.32	0.36	0.40
3	5	0.25	0.29	0.32	0.37	0.41	0.45
4	0	0.13	0.17	0.21	0.25	0.30	0.36
4	1	0.17	0.21	0.26	0.31	0.36	0.42
4	2	0.22	0.26	0.32	0.38	0.44	0.50
4	3	0.27	0.33	0.39	0.45	0.52	0.59
4	4	0.34	0.40	0.47	0.54	0.62	0.69
4	5	0.41	0.48	0.56	0.64	0.72	0.81
5	0	0.23	0.31	0.43	0.58	0.76	0.95
5	1	0.33	0.46	0.64	0.84	1.1	1.3
5	2	0.49	0.70	0.95	1.2	1.5	1.8
5	3	0.79	1.1	1.4	1.8	2.1	2.5
5	4	1.3	1.7	2.2	2.8	3.5	4.3
5	5	2.4	3.5	5.4	9.2	16	—

土壤微生物研究会編 (1994) : 新編土壤微生物実験法より