<ノー ト>

高濃度硝酸態窒素含有地下水の流入する 水田下層土における脱窒活性

戸田 任重* 日高 伸**

Potential Denitrification Rates of Subsurface Soil under Paddy Fields Receiving Ground Water with High Nitrate Concentration

Hideshige TODA* and Shin HIDAKA**

* Coastal Sand Branch, Shizuoka Agricultural Experiment Station (ex-National Institute of Agro-Environmental Sciences), Kaigan 4433, Godo, Hamaoka, Shizuoka 437-16 Japan

** Saitama Agricultural Experiment Station, Kubojima 1372, Kumagaya, Saitama 360 Japan

Abstract

Denitrification rates were measured by acetylene blockage technique in slurried material collected from subsurface soil under paddy fields in Okabe, Saitama, under anaerobic, nitrate-amended conditions in the laboratory. The subsurface soil from 40-150cm showed the rates of $0.4-46\text{ ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$, which were 1-2 orders magnitude smaller than those of the surface soils. The results demonstrate that denitrification can occur in subsurface soil under paddy fields in anaerobic conditions and can serve as a mechanism for nitrate removal from groundwater there.

Key words: denitrification, nitrate, ground water, subsurface soil, paddy field

1. はじめに

高濃度の硝酸態窒素を含む水を灌漑している水田において、表面水の硝酸態窒素濃度が流下にともない低下する例はよく知られている。これは、水稻・附着性藻類による吸収、および水田表層土に発達した還元層における脱窒のためである¹⁻⁴⁾。ところで、埼玉県北西部の櫛引台地下流域の水田地帯においては、湛水期だけでなく、非湛水期にも水田下層の地下水中の硝酸態窒素濃度が流下（台地から離れるほど）にともない低下する場合が見られる^{5),6)}。このことは、本水田地帯では水田表層土ばかりでなく下層土においても、脱窒が起きている可能性を示唆する。この点を検証するため、同地帯の水田下層土を採取しその脱窒活性を測定し

た。

2. 調査および実験方法

2.1 調査地域の概要

調査は旧荒川扇状地（櫛引台地）末端に位置する埼玉県岡部町普濟寺の水田地帯で行った（Fig. 1）。台地面は2～3 mのローム層に被われている。扇端部は沖積低地へと続き、この低地には水田が広がり、小規模な自然堤防が数多く点在している。扇頂部付近の標高は約115m、扇端は50m前後、低地の水田は39～32mである。帯水層の地層は第四紀の洪積層であり、砂礫層、粘土混じり砂礫層、粘土・砂礫の互層で、帯水層の厚さは12～13mである。地下水の流動は最上部の砂礫層が主であり、その大きな流れは、地形、地質、等高線、

* 静岡県農業試験場海岸砂地分場（前 農業環境技術研究所）〒437-16 静岡県小笠郡浜岡町合戸字海岸4433

** 埼玉県農業試験場 〒360 埼玉県熊谷市久保島1372

Fig. 1 Topographic map and geological structure at the study area and sampling sites

等地下水位線から判断して、地形面に沿って扇端部へ流れていると思われる^{6),7)}。櫛引台地上には畜産団地、露地野菜畑、集落があり、台地と水田との境界は湧水面となっており、高濃度の硝酸態窒素 ($25\sim30\text{mgN}\cdot\text{l}^{-1}$) を含む地下水が水田地帯に流出している^{5),6)}。

2.2 実験方法

水田土壌は、櫛引台地縁から約50mの#2と#5、および約450mの#10の3地点で採取した(Fig. 1)。調査対象の水田は、作土(厚さ約20cm)が灰色低地土、下層土が下層黒ボクで、#2では深さ30~40cm、#5では120~150cm、#10では90~150cm付近に粘土層があった。土壌の採取は、非湛水期の1992年4月23日(#5のみ)、6月1日、11月17日に、人力オーガを用いて行った。試料はオーガ先端部より内径5cmのアクリルパイプでくりぬき、試料周辺部を削り落して実験に供した。

脱窒速度の測定は清家ら⁸⁾に準じてアセチレン阻害法で行った。湿土5~20gを150ml⁻¹容の広口ガラスビンに入れ、蒸留水添加区(4月23日のみ)は蒸留水20mlを、硝酸塩添加区は30mgN $\cdot\text{l}^{-1}$ の硝酸カリウム(KNO₃)溶液20mlを(培養開始時の液相濃度は20~25mgN $\cdot\text{l}^{-1}$)、グルコース添加区はKNO₃溶液20mlに加えて100g glucose $\cdot\text{l}^{-1}$ のグルコース溶液2.5mlを加え(培養開始時の液相濃度は18~22mgN $\cdot\text{l}^{-1}$ 、

8~9g glucose $\cdot\text{l}^{-1}$)、内径5mmのガラス管(ガスクロ用シリコンセプタム付き)の付いたブチルゴム栓で密封した。このガラス管を通して、ガラスビン内の空气の吸引、窒素ガスの充填を3回繰返し、気相を窒素ガスで置き換えた。その後すべての培養ビンにアセチレン飽和水2.5mlをシリンジで添加した。これらのガラスビンを15°Cの恒温装置の中に入れ、暗条件下で4~6時間振とう培養した。対象は土壌を入れずに同様の処理をした。培養期間中1~2h間隔でガラスビン内の気相の一部を5mlの真空採血管に採取し、後にその中の亜酸化窒素(N₂O)量をECDガスクロマトグラフ(島津GC14A、線源:⁶³Ni、充填剤:ポラパックQ50-80メッシュ、ステンレスカラム3mm $\times$ 3m、キャリアガス:窒素ガス25ml $\cdot\text{min}^{-1}$ 、カラム温度:70°C、検出器温度:340°C)で測定した。液相濃度はN₂Oの溶解度係数⁹⁾を用いて算出し、培養びん内のN₂O全量を求めた。N₂O量の経時変化から初期速度を計算し、脱窒速度とした。実験は2連で行い平均値を用いた。

各土壌試料の硝酸態(NO₃-N)、亜硝酸態(NO₂-N)およびアンモニウム態窒素(NH₄-N)は2N塩化カリウム(KCl)抽出後、NO₃-Nはカドミウムカラム還元法、NO₂-Nはスルファニルアミド-エチレンジアミン比色法、NH₄-Nはインドフェノールブルー比色法によ

り、オートアナライザー(テクニコン AA-II 型)を用いて測定した。土壌の全有機態炭素 (TOC) および全有機態窒素 (TON) は、燃焼法により CHN コーダー(柳本)で測定した。

3. 結 果

3.1 水田下層土の物理化学性

調査時の水田下層土の地温は、1992年 4 月23日が15.5~17.0℃、6 月 1 日が16.3~20.3℃、11月17日が10.6~16.8℃で、表層部の変化は大きかったが、下層部(1 m 以深)では15~16℃でほぼ一定していた。地

下水位は、#2 の11月17日が25cm (6 月 1 日は欠測)、#5 の4 月23日が50cm、6 月 1 日が14cm、11月17日が24cm、#10の6 月 1 日が0 cm、11月17日が50cmであり (Fig. 3)、40cm 以深の下層土の大部分は地下水帯水層中にあった。含水率は、ほとんどの部位で30~50%、平均39.1%±11.0% (±1 sd) であった。TOC、TON は#5 では14~52g C・kg⁻¹ dry soil、1.3~4.7g N・kg⁻¹ dry soil で、表層と60~80cm 付近で極大値を示し、#10では18~53g C・kg⁻¹ dry soil、1.2~3.5g N・kg⁻¹ dry soil で、60cm で最大になった (Fig. 2 上段)。NO₃-N は、#5 と#10の表層部0~20

Fig. 2 TOC, TON, and NO₃-N concentrations of subsurface soil under paddy fields in Okabe, Saitama

cm ($0 \sim 3.3 \text{ mg N} \cdot \text{kg}^{-1}$ dry soil), #2 の 25~50cm ($9 \sim 18 \text{ mg N} \cdot \text{kg}^{-1}$ dry soil), および #5 の 80cm (4 月 23 日, $3.1 \text{ mg N} \cdot \text{kg}^{-1}$ dry soil) でみられたが, 帯水層内ではほとんどが $0.1 \text{ mg N} \cdot \text{kg}^{-1}$ dry soil 以下であった (Fig.2 下段)。一方, $\text{NH}_4\text{-N}$ は, #2 で $0 \sim 6.2$, #5 で $0.4 \sim 54$, #10 で $0.3 \sim 19 \text{ mg N} \cdot \text{kg}^{-1}$ dry soil であり, 大部分の土壤層で検出された。

3.2 水田下層土の脱窒速度

培養実験に供したほとんどの土壌は培養期間中に

N_2O の蓄積を示した。それに対し, 対象区(土壌なし)では N_2O の蓄積はみられなかった ($-0.1 \pm 0.3 \text{ ng N} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $n = 4$)。硝酸塩添加区 (+ KNO_3) およびグルコース添加区 (+ KNO_3 + glucose) では, 粘土層の出現する深さまで (人力オーガでは粘土層を貫通できなかった), すなわち #2 では深さ 15~40cm まで, #5 では 120~150cm まで, #10 では 90~150cm まで, $1 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1}$ wet soil $\cdot \text{h}^{-1}$ 以上の脱窒速度が得られた (Fig. 3)。脱窒速度は地表面 (0 cm) で最も大きく, 40cm

Fig. 3 Denitrification rates of subsurface soil under paddy fields in Okabe, Saitama, in anaerobic conditions at 15°C. Values in parentheses are ground water table

以深の下層土ではそれよりも1~2ケタ小さく、境界の15~20cm層ではその中間的な値を示した。また、脱窒速度は、蒸留水添加区よりも硝酸塩添加区の方が平均で18倍(4月23日の#5)、硝酸塩添加区よりもグルコース添加区の方が平均で3倍大きかった。硝酸塩添加区の値は、地表面では#2が25.5~54.3(平均39.9) $\text{ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$ 、#5が69~1165(523.2 ± 571.7) $\text{ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$ 、#10が0~156(平均78.1) $\text{ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$ 、40cm以深の下層土では#2が0.4 $\text{ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$ (粘土層試料)、#5が0.9~181(46.0 ± 62.0) $\text{ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$ 、#10が0~14.4(3.8 ± 4.8) $\text{ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$ であった。

4. 考 察

今回の調査地点では、表層土に比べれば1~2ケタ小さいものの、40cm以深の下層土(大部分は地下水帯水層中)においても脱窒が認められた(Fig. 3)。このことは、水田表層土ばかりでなく下層土においても、嫌気条件が満たされ、そこに硝酸態窒素が存在すれば脱窒が起き得ることを示している。硝酸塩添加区の下層土の平均脱窒速度0.4~46 $\text{ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$ は、平均含水率39%で換算すると0.02~2.82 $\text{mg N}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ の硝酸態窒素消費速度に相当する。高い方の値は25 $\text{mg N}\cdot\text{l}^{-1}$ の硝酸態窒素が10日以内で消失する速度であり、地下水の流速(日本では通常0.1~30 $\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$)

にもよるが、櫛引台地下流域の水田地帯でみられた浅層地下水中の硝酸態窒素濃度の低下を充分引き起こし得る量であろう。

ただし、ここで得た脱窒速度は、高濃度の硝酸態窒素が存在し、酸素がないときの脱窒速度であり、必ずしも現場での脱窒速度を表してはいない。実際、調査時の下層土には硝酸態窒素はほとんど存在していなかった(Fig. 2)。また、調査地点近くのアシ湿地では、現場での脱窒速度が間隙水中の硝酸態窒素の有無に大きく左右されていることが示されている¹¹⁾。脱窒は酸素濃度にも強く影響される。調査地域の浅層地下水では、流下にともない溶存酸素濃度が低下する場合もみられるが、通常はその溶存酸素濃度は高く、脱窒が起きるのは土壤粒子間の空隙内に発達する嫌氣的領域に限られると思われる。また、脱窒が起きるためには、電子受容体としての硝酸態窒素に加えて、電子供与体の有機物が必要である。櫛引台地の下流域にある水田(特に台地縁の水田)の下層土は、台地の地層の影響を強く受けて下層黒ボクになっていることが多い。黒ボクは有機物を比較的多く含み、調査地域の水田下層土のTOCもかなり大きな値(14~53 $\text{gC}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ dry soil}$)を示した(Fig. 2)。今回の実験で、嫌気条件下、硝酸塩のみで有機物の添加なしでもかなりの脱窒活性がみられたことから、水田下層土には脱窒に利用可能な有機物が十分とは言えないまでもある程度は存在しているものと思われる。今後は、現地での地下水の流速測

Table 1 Denitrification rates of subsurface soil directly measured in various places

Samples and places		Denitrification rates ($\text{ng N}\cdot\text{g}^{-1}\text{ wet soil}\cdot\text{h}^{-1}$, $\pm 1\text{SD}$)	References and comments
Subsurface soil under paddy fields in Saitama	#2 (0.4m)	0.4	present study anaerobic nitrate-amended
	#5 (0.4-1.5m)	46.0 ± 62.0	
	#10 (0.4-1.5m)	3.8 ± 4.8	
Subsurface soil under paddy fields in Ibaraki(0.3-0.4m)		110-200	Ogawa and Sakai (1984) ¹²⁾ anaerobic, nitrate-amended converted by assuming water content of 40%
Sand and gravel aquifer on Cape Cod, Massachusetts (1.5-27m)		0.06-7.28	Smith and Duff (1988) ¹³⁾ anaerobic
Surface aquifer on Long Island, New York		6.0 ± 0.2	Slater and Capone (1987) ¹⁴⁾ anaerobic converted by assuming water content of 40%
Core samples adjacent to a septic tile field (1.2-3.0m)		180-1200	Ward (1985) ¹⁵⁾ anaerobic, glucose+nitrate-amended converted by using water content of 75%
Sand aquifer in agricultural region of southwestern Ontario, Canada(3m)		3.1-52	Trudell et al. (1986) ¹⁶⁾ in-situ rates converted by assuming water content of 40%
Subsurface sediments on Parris Island, South Carolina(5-185m)		1.2 ± 1.3	Morris et al. (1988) ¹⁷⁾ anaerobic, nitrate-amended converted by assuming water content of 40%

定とともに、現場条件あるいはそれに近い条件での脱窒速度の測定を行い、浅層地下水の硝酸態窒素濃度低下における脱窒の貢献度を定量的に評価していく必要がある。

地下水帯水層中での脱窒速度を直接的に測定した例がいくつか報告されている (Table 1)。小川と酒井¹²⁾は茨城県銚田町の畑地排水の流入する水田下層土 (深さ30~44cm) で $0.44 \sim 0.80 \text{ mg N} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ dry soil} \cdot \text{d}^{-1}$ ($110 \sim 200 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$) の値を得ている。Smith and Duff¹³⁾は下水処理場下流域に位置する硝酸態窒素を含んだ砂礫層で $2.3 \sim 260 \text{ pmol of N}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$ ($0.06 \sim 7.3 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$) の値を報告している。同論文に、硝酸態窒素を含む地下水が湧出している Long Island 海岸の帯水層上部での例¹⁴⁾, $17 \pm 0.6 \text{ ng-atom of N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dry soil} \cdot \text{d}^{-1}$ ($6.0 \pm 0.2 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$) と下水処理槽近くで採取された下層土壌の値¹⁵⁾, $0.7 \sim 4.7 \mu\text{g N}_2\text{O} \cdot \text{N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dry soil} \cdot \text{h}^{-1}$ ($180 \sim 1,200 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$)、およびカナダ Ontario の農業地域の砂質帯水層の現場条件で測定された値¹⁶⁾, $0.0078 \sim 0.13 \text{ g N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ ($3.1 \sim 52 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$) が紹介されている。また、Morris¹⁷⁾は、近くに下水処理場のある South Carolina, Parris Island の5~185m 深の土壌で $1.7 \pm 1.8 \text{ nmol N}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dry soil} \cdot \text{d}^{-1}$ ($1.2 \pm 1.3 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$) の値を得ている。これらの脱窒速度は、下水処理槽近くで得られた値を除けば、今回埼玉県の水田下層土で得られた値 ($0.4 \sim 46 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$) とほぼ同じレベルである。埼玉県の場合を含めて、上記の調査地点はいずれも帯水層に高濃度の硝酸態窒素が混入しているような場所であり、そのような場所では帯水層中の脱窒が地下水硝酸汚染の軽減に寄与している可能性がある。上述したように実際の現場でどの程度この機能 (脱窒) が発揮されているのか、今後明らかにしていく必要がある。

5. 結 論

アセチレン阻害法により、嫌気、硝酸塩添加条件下で、水田下層土の脱窒速度を測定した。表層土に比べれば1~2ヶタ小さいものの、40~150cmの下層土 (大部分は地下水帯水層中) において、 $0.4 \sim 46 \text{ ng N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ wet soil} \cdot \text{h}^{-1}$ の脱窒速度が得られた。このことは、水田表層土ばかりでなく下層土においても、嫌気条件が満たされ、そこに硝酸態窒素が存在すれば脱窒が起き得ることを示しており、水田地帯の浅層地下水での硝酸態窒素濃度の低下に下層土の脱窒が寄与している可能性を示唆する。

謝 辞

本研究は環境庁公害防止研究の助成を受けて行ったものである。脱窒測定に協力いただいた石塚加織氏 (前茨城大学農学部)、ならびに様々な支援をいただいた竹内誠氏、楊宗興氏に感謝いたします。

(原稿受付 1995年4月4日)

(原稿受理 1995年10月18日)

参 考 文 献

- 1) 田淵俊雄, 鈴木誠治, 高村義親 (1983) 非稲作期の谷津田における畑地流出水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ の除去について, 農業土木学会論文集, 104, 9-15.
- 2) 高村義親, 鈴木誠治, 古賀康夫, 田淵俊雄 (1983) 湛水土壤ライシメーターにおける硝酸態窒素および塩素イオンの動向と収支について, 日本土壤肥科学雑誌, 54, 37-44.
- 3) 日高伸, 柴英雄 (1983) 汚濁水流入田の田面水質—アオウキクサと藻類の窒素に及ぼす影響, 日本土壤肥科学雑誌, 54, 429-433.
- 4) 小川吉雄, 酒井一 (1985) 水田における窒素浄化機能の解明, 日本土壤肥科学雑誌, 56, 1-9.
- 5) 日高伸, 山口幹周 (1992) 台地縁湧水の水質変動と水田の窒素浄化量, 日本土壤肥科学会講演要旨集, 38, 165.
- 6) 日高伸 (1991) 畑・水田連鎖系における地下水中窒素循環の計測, 土・水研究会資料, No. 8, 70-89.
- 7) 日高伸, 伊藤信 (1987) 荒川扇状地における地下水水質の実態解析と調査法, 埼玉県農業試験場研究報告, No. 42, 61-84.
- 8) 清家泰, 近藤邦男, 伊達善夫, 石田祐三郎 (1986) 汽水湖・中海における窒素代謝 II—夏期における底泥表層部での脱窒特性—, 日本陸水学雑誌, 47, 133-141.
- 9) Weiss, R.F. and Price, B.A. (1980) Nitrous oxide solubility in water and seawater, *Marine Chemistry*, 8, 347-359.
- 10) 水収支研究グループ編 (1993) 地下水資源・環境論—その理論と実戦—, 350pp., 共立出版, 東京.
- 11) 戸田任重, 楊宗興, 日高伸 (1995) 高濃度硝酸態窒素含有地下水の流入するアシ湿地における脱窒速度の実測, 水環境学会誌, 18, 419-423.
- 12) 小川吉雄, 酒井一 (1984) 畑地から水田内へ流入した硝酸態窒素の動向, 日本土壤肥科学雑誌, 55, 533-538.
- 13) Smith, R.L. and Duff, J.H. (1988) Denitrification in a sand and gravel aquifer, *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 1071-1078.
- 14) Slater, J.M. and Capone, D.G. (1987) Denitrification in aquatic soil and nearshore marine sediments influenced by groundwater nitrate, *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 1292-1297.
- 15) Ward, T.E. (1985) Characterizing the aerobic and anaerobic microbial activities in surface and subsurface soils, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 4, 727-737.
- 16) Trudell, M.R., Gillham, R.W. and Cherry, J.A. (1986) An in-situ study of the occurrence and rate of denitrification in a shallow unconfined sand aquifer, *Journal of Hydrology*, 83, 251-268.
- 17) Morris, J.T., Whiting, G.J. and Chapelle, F.H. (1988) Potential denitrification rates in deep sediments from the southeastern coastal plain, *Environmental Science and Technology*, 22, 832-836.