

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26281011

研究課題名(和文) 海に面した富栄養湖流域における元素分布と微生物代謝に基づく元素循環のカップリング

研究課題名(英文) Coupling of element cycling based on element distribution and microbial metabolism in the eutrophic lake watershed facing sea

研究代表者

早川 敦 (Hayakawa, Atsushi)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：10450280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：・秋田西部の海成堆積岩を主体とする河川源流域の高含硫層において、硫黄脱窒のシグナルとそれを駆動する硫黄酸化細菌を検出した。  
 ・渓流水中の溶存反応性リン(SRP)濃度が、海成堆積岩の集水域(23 µg/L, n=66)で火成岩の集水域(8 µg/L, n=55)より有意に高いことを明らかとした。秋田西部の海成堆積岩地帯は渓流水中のリンの供給源であることが明らかとなった。  
 ・八郎瀧干拓地の高濃度リン地下水の水質はNaHCO<sub>3</sub>型であった。3年の経年観測の結果、SRP濃度は春から夏にかけて上昇し冬期に低下する周期性が明らかとなった。周期性の要因は干拓地地下水への湖水(淡水)の流入と推察された。

研究成果の概要(英文)：・We detected sulfur denitrification signal and the sulfur oxidizing bacteria in the sulfide rich soil layer in the headwater catchment with marine sedimentary rock area in the western part of Akita.  
 ・SRP (soluble reactive phosphorus) concentration in stream water was significantly higher in marine sedimentary rock catchments (23 µg/L, n=66) than those in igneous rock catchments (8 µg/L, n=55). The marine sedimentary rock area in the western part of Akita was revealed to be a source of phosphorus in stream water in the headwater catchments.  
 ・Water quality of the ground water that detected high SRP concentration in Hachirogata reclaimed land was NaHCO<sub>3</sub> type. As a result of 3 years field monitoring, SRP concentration had a clear cyclic variation that increased from spring to summer and decreased in winter. The inflow of lake water (freshwater) to the groundwater was expected to be a trigger of the cyclic variation of SRP concentration.

研究分野：生物地球化学

キーワード：生物地球化学 微生物生態 硫黄脱窒 海成堆積岩 酸化還元 リン動態

### 1. 研究開始当初の背景

微生物は生態系の生物地球化学循環を駆動し (Falkowski et al., 2008; Science), 地質は微生物代謝の基質となる電子供与体や受容体の分布を支配する. 研究開始当初には, 微生物と地質の強い結びつきとそれによる元素循環の連結 (カップリング) (Burgin et al., 2011; Front. Ecol. Environ.) が指摘され, 生元素の生物地球化学循環プロセスの認識が更新されつつある一方で, 陸域と海洋の境界である陸域・沿岸生態系における知見の蓄積が求められていた.

陸域・沿岸生態系では, 特異な元素循環が成立している可能性がある. 例えば, パイライト ( $\text{FeS}_2$ ) は自然界で最も豊富な硫化物であるが, 海洋に豊富な硫酸イオンが還元されてできる硫化水素と陸域から供給される鉄が結合して生成することから沿岸域に偏在する. パイライトを電子供与体とした脱窒 (硫黄脱窒) は, 微生物を介した硫黄循環と窒素循環のカップリングの一例である. したがって, 沿岸域の土壌や地下圏では, 従来の従属栄養性の脱窒だけでなく, 独立栄養性の硫黄脱窒の寄与も無視できないほど大きい可能性があるが, 当該域における硫黄脱窒の定量的かつ微生物生態学的な証拠は乏しい現状があった. 一方, 河口・沿岸域には, 陸域から供給された粒子状のリンやその豊富な生産性から生物由来のリンが堆積していると考えられ, その堆積物からの溶出は生態系の生産性に大きな影響をおよぼすと考えられる. 堆積物からのリンの溶出には, リン溶解菌による直接的な溶出のほか, 炭素, 窒素, 鉄, 硫黄の微生物代謝のカップリングを通じた間接的な溶出が予想される.

秋田県八郎湖は, 夏季のアオコ発生が定常化している富栄養湖である. 地質年代スケールでみると最近まで汽水域であった八郎湖流域 (小池ら, 2005; 日本の地形3 東北) は, 汽水時代の堆積環境を反映した物質循環が成立している可能性がある. すなわち, 地層に集積したパイライトや生物起源のリンが微生物を介した物質循環の動力源となっていると考えられる. 申請者らは, 流域内渓流域 ( $n=35$ ) の河川底質の還元型硫黄含量が潜在的に多いことを発見し, 渓流域においても  $\text{NO}_3^-$  の硫黄脱窒による消失が示唆された. 一方, 同じ渓流水リン酸濃度は全国平均 (若松ら, 2006; 水環境学会誌) の2倍もの高濃度であり, 流域に分布する海洋生物起源と思しき堆積物からのリンの供給が示唆された. 以上より, 地層にパイライトおよび生物起源のリンを多く含有すると予想される八郎湖流域では, こうした特殊な地質に起因する微生物代謝を通じた元素のカップリングの結果, 硫黄脱窒とリンの溶出が卓越し, 淡水中の DIN/DIP 比が潜在的に低下しやすい, すなわち, 生態系のリン制限が解除されやすいという作業仮説を立てた.

### 2. 研究の目的

本研究では, 特異な元素循環プロセスが検出できると予想される秋田県八郎湖流域において, 硫黄脱窒とリン動態に着目し, 元素の分布と微生物代謝に基づく生元素循環のカップリング経路を検出し, そのメカニズムと空間的特徴を明らかにすることを目的とした. 具体的には, 以下の3点を実施した.

- 1) 八郎湖流域源流域における硫黄脱窒の評価
- 2) 秋田西部の渓流水リン濃度分布の把握と空間特性の評価
- 3) 八郎湖干拓地高濃度リン湧出地点の水質特性の把握

### 3. 研究の方法

- 1) 八郎湖流域源流域における硫黄脱窒の評価

(1) 調査地概要: 八郎湖流域は日本海に面した秋田県西部に位置し, 流域面積は  $894 \text{ km}^2$  である (図1). 流域の年間降水量は  $1553 \text{ mm}$ , 年平均気温は  $10.8^\circ\text{C}$  である. 流域東部には流域の45%を占める森林が分布し, スギ人工林を主体とする樹種構成となっている. 八郎湖流域周辺は東北グリーンタフ地帯に属し, 新第三紀中新世以降の堆積岩類および火山岩類からなる地層が広く分布している. 特に秋田地域には前期中新世末から海水が浸入し, 中期中新世前期の中ごろにはほぼ全域が沈水した状態が維持され, その結果, 八郎湖周辺の新第三紀上半部を構成する堆積岩類は海成層で, 厚い泥質岩からなる.

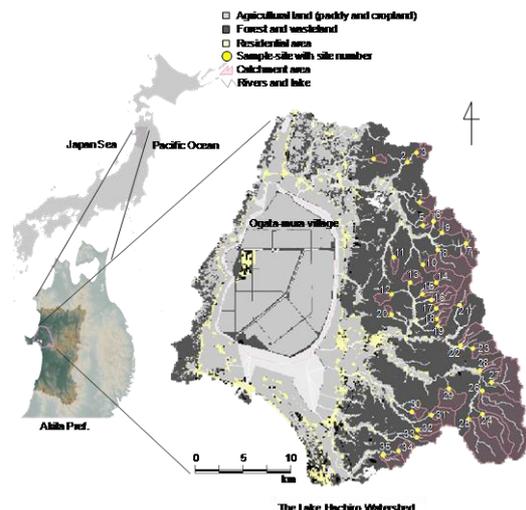


図1 八郎湖流域と渓流水の調査地点

硫黄脱窒の評価は, 申請者らの研究によって河川堆積物の硫黄含量が高く, 硫黄脱窒のポテンシャルが高いと考えられた馬場目川流域内の支流域 (No.15) の河川露頭の土壌試料を採取することで行った (図2). そのうち B 地点の露頭の土壌試料は, 表層から約3 mの深度まで採取し8層に分け, 室内培養試験に供した.

- (2) 培養方法: 約 150 mL 容の培養ビンに試料 15 g 採取し, N 処理( $\text{KNO}_3\text{-N}$ : 5 mg/L), N+S 処理 ( $\text{KNO}_3\text{-N}$ : 5 mg/L,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}\text{-S}$ :10 mg/L) の処理液を設け, 50 mL ずつ添加した. 培養ビンの気相を窒素ガスに置換し, 気相と溶液を 5 日後に採取した. 各処理 3 連で行った.
- (3) 分析項目: 溶液中の  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  及び気相中の  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  を測定した. 硫黄脱窒の電子供与体となりうる堆積物中の易酸化性硫黄含量(EOS)を測定し, 次世代シーケンサーによる細菌の群集構造も決定した.

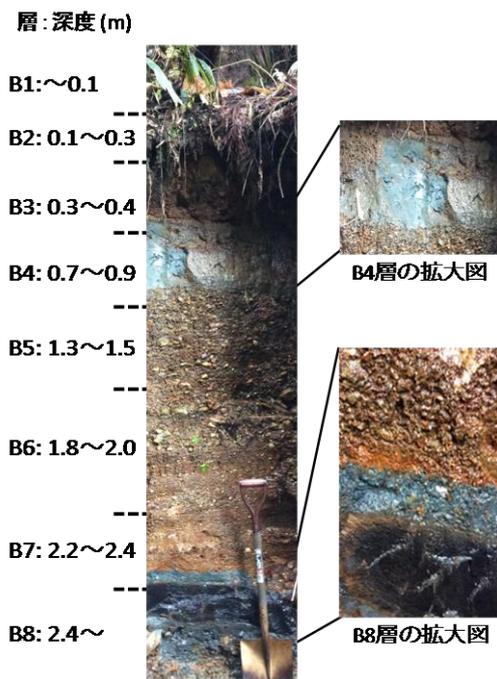


図2 八郎湖流域の源流域 No.15 地点の河川脇露頭 B. B4, B8 層は硫化物含量が多い.

- 2) 秋田西部の渓流水リン濃度分布の把握と空間特性の評価
- (1) 背景と目的: これまでに申請者らによって秋田県西部の渓流水中の溶存反応性リン (SRP) 濃度が局所的に高いことが明らかとなり, 新第三紀の海成堆積岩を主体とする表層地質がリンの供給源となっている可能性があった. しかし, 多様な要素からなる渓流水質において, 高いリン濃度の要因が表層地質によるものなのかは明らかでなかった. 本研究では, 秋田西部の単一の表層地質からなる集水域の渓流水質を比較し, 高濃度リンをもたらす水質の特性を明らかにすることを目的とした.
- (2) 調査方法: 秋田県西部の山地において, 表層地質が海成堆積岩 (66 地点), および火成岩 (55 地点) で形成される源流域を選定し, 2015 年夏季に平水流量時の調査を実施した.
- (3) 分析方法: 渓流水の SRP 濃度はモリブデンブルー法で測定し, その他主要成分も測定

した.

- 3) 八郎潟干拓地高濃度リン湧出地点の水質特性の把握

- (1) 背景と目的: 八郎潟干拓地の自然原野内に湧出する地下水リン濃度は 10 mgP/L を超える高濃度であるが, その湧出機構は明らかでない. これまで, 塩分濃度の高い深度 12.4 m の地下水において, 淡水の流入に伴う溶存反応性リン (SRP) 濃度の変動を示唆する現象を確認した. 本研究の目的は, 地下水質の継続観測によるリン濃度の周期性の確認とその要因の考察および, 堆積物試料の逐次抽出による塩水と淡水の接触の繰り返しがリン濃度の周期性を再現するかの検証とした.
- (2) 調査方法: 調査地は八郎潟干拓地南西部の自然植生が維持された原野である. 地下水は 2013 年 12 月~2016 年 12 月に月 1 回, 12.4 m 地下水を含む深度の異なる地下水観測孔(7 箇所)から採水した. 調査時に地下水位, 水温, pH, EC, ORP を測定した. また, 地下 10.9-11.0 m の粘土層の試料を 3 種の抽出液 ( $\text{H}_2\text{O}$ , 1M NaCl, 1M  $\text{NaHCO}_3$ ) で振とう遠心後, 上澄溶液を全量採取し, 続いて水 ( $\text{H}_2\text{O}$ ) 抽出を逐次的に 6 回行い, 再び 3 種の抽出液で抽出後, 水抽出を繰り返した. 水試料は SRP 濃度ほか主要成分の分析に供した.

#### 4. 研究成果

- 1) 八郎湖流域源流域における硫黄脱窒の評価

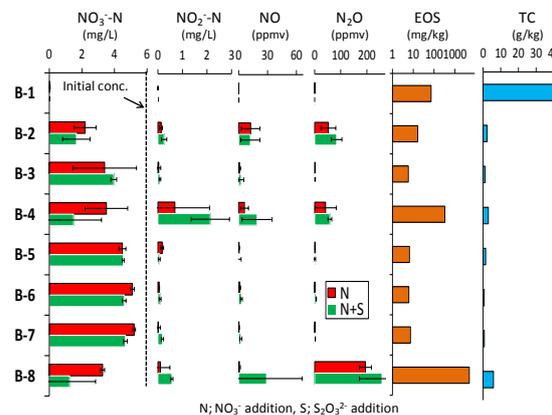


図3 八郎湖流域の源流域 No.15 地点の河川脇露頭試料における培養後の形態別窒素濃度および試料中の EOS, T-C 含量.

B 地点では, EOS 含量が多かった B4 層 (0.7 ~0.9 m), B8 層 (2.4 m) で  $\text{NO}_3^-$  濃度低下と  $\text{SO}_4^{2-}$  の濃度上昇が顕著な硫黄脱窒のシグナルを検出した. B4, B8 層では,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  濃度の上昇も確認し, 脱窒の進行が伺えた. 特に N+S 処理では,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}$  濃度の上昇が顕著であり, 硫黄脱窒細菌の窒素代謝の特徴と考えられた (図 3). 菌叢解析の結果, 近傍地

点で採取した B8 層相当の試料には亜硝酸蓄積型 (*Sulfuricurvum kujiense*, *Sulfuricurvum kujiense* DSM 16994) の硫黄酸化細菌が検出され (図 4), 培養試験の窒素濃度の特徴を支持する結果が得られた. 以上より, 河川源流域の高含硫層では, 硫黄脱窒が下層の窒素循環に寄与していることを確認した.

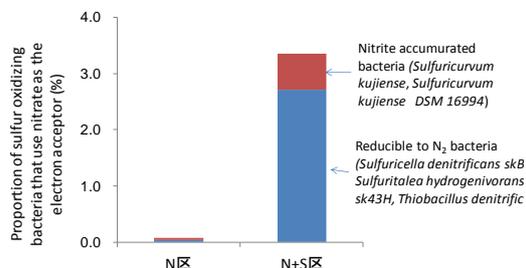


図 4 PCR パイロシーケンスによる B8 相当層の処理液別の菌叢解析結果

## 2) 秋田西部の渓流水リン濃度分布の把握と空間特性の評価

渓流水の SRP 濃度は, 新第三期天徳寺層堆積当時の旧海岸線に沿って西側 (海側) で高く (図 5), 海成堆積岩の集水域 (中央値 23 $\mu\text{g/l}$ ) で火成岩の集水域 (8 $\mu\text{g/l}$ ) より有意に高いことが明らかとなった ( $P < 0.001$ ) (図 6). さらに, 地質年代の若い海成堆積岩地

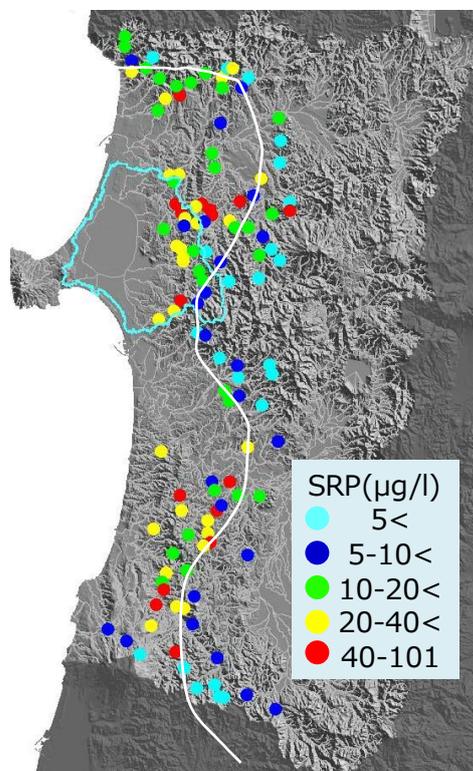


図 5 秋田西部の渓流水中 SRP 濃度分布. 白線は天徳寺層堆積当時 (6-5 Ma) の旧海岸線 (白石・的場, 1992) を表す. 水色のラインは八郎湖流域の流域界を表す.

帯ほど濃度が高い傾向にあった. 高濃度リンを検出した集水域の水質は塩化ナトリウム型の傾向を示し, SRP と  $\text{Na}^+$  に有意な正の相関を認めた ( $r=0.408$ ,  $P < 0.01$ ) (図 7). 以上より, 秋田県西部の海成堆積岩地帯は渓流水中のリンの供給源であることが明らかとなり, 高濃度の  $\text{Na}^+$  を伴うことから, 有史以前の地質時代の海水浸漬と堆積物との相互作用が, 高い SRP 濃度をもたらす要因であることが推察された.

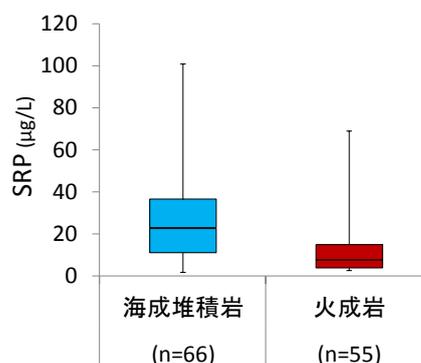


図 6 秋田西部の表層地質の違いによる渓流水中 SRP 濃度の比較. U 検定:  $p < 0.01$

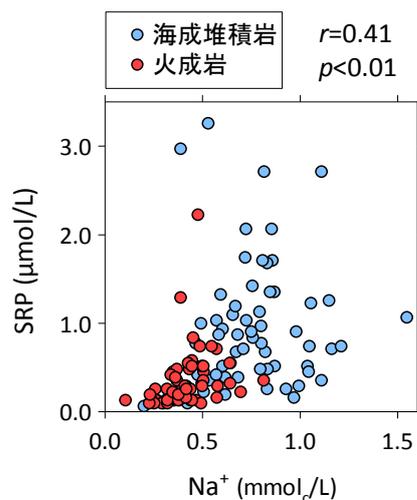


図 7 秋田西部の表層地質の違いによる渓流水中  $\text{Na}^+$  濃度と SRP 濃度の関係

## 3) 八郎潟干拓地高濃度リン湧出地点の水質特性の把握

高濃度リン地下水の水質は  $\text{NaHCO}_3$  型であった. 濃度変動が確認された 12.4 m 地下水の SRP 濃度は  $10.1 \pm 1.0 \text{ mgP/L}$  で, 春から夏にかけて上昇し冬季に低下する周期性が明らかとなった (図 8). SRP 濃度 ( $n=32$ ) は, pH,  $\text{Na}^+$ , 無機態 C と正の相関 ( $P < 0.01$ ) にあり,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , ORP とは負の相関 ( $P < 0.01$ ) にあった. 逐次抽出の結果,  $\text{NaHCO}_3$  抽出で SRP 濃度が顕著に上昇し, 周期性も確認された (図 9).  $\text{NaHCO}_3$  濃度上昇による  $\text{Ca}^{2+}$  の活量低下が SRP 濃度を高めたと推察された.

八郎湖の水位と SRP 濃度に正の相関を認め、周期性の要因は干拓地地下水への湖水（淡水）の流入と推察された。

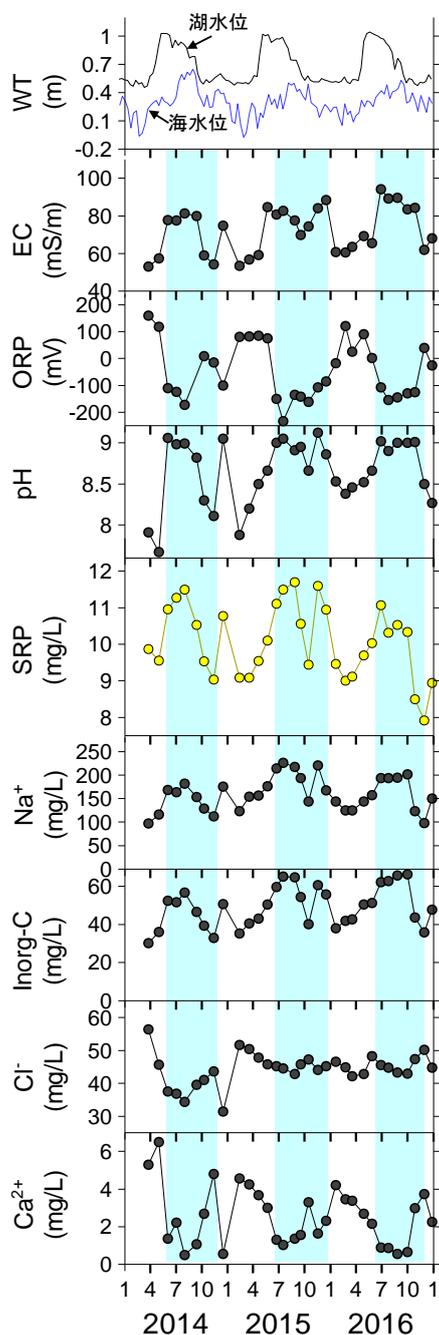


図8 高濃度リン湧出地点における地下水 SRP 濃度とその他水質の時間変動

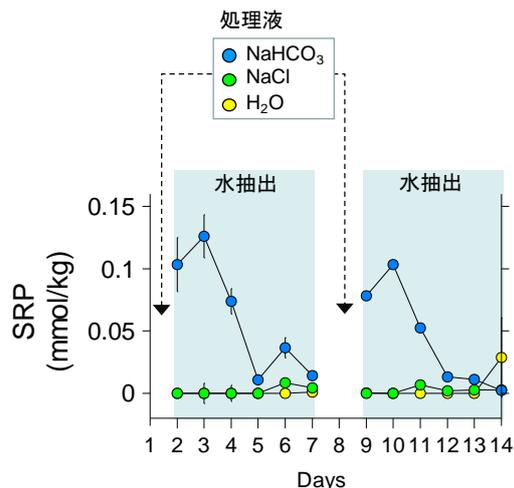


図9 塩水と淡水の接触の繰り返しが堆積物からの SRP 溶出におよぼす影響

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- 1) Hayakawa, A., Ikeda, S., Tsushima, R., Ishikawa, Y., Hidaka, S. (2015) Spatial and temporal variation in nutrients in water and riverbed sediments at the mouths of rivers that enter Lake Hachiro, a shallow eutrophic lake in Japan. *Catena*. doi:10.1016/j.catena.2015.04.009, 査読有
- 2) 早川敦, 石川祐二, 且高伸 (2015) 河川源流域におけるリン濃度分布-研究レビューと秋田県の事例-, *地球環境*, 20, 17-26, 査読有

[学会発表] (計 16 件)

- 1) 村山由樹, 早川敦, 石川祐二, 高橋正 (2017) 表層地質の異なる河川堆積物からのリン溶出特性-溶液のイオン組成の違いによるリンの可給性評価-, 生物地球化学研究会, 山梨大学, 甲府市, 2017.11.11
- 2) 小澤優花, 早川敦, 石川祐二, 高橋正 (2017) 渓流水中のリン濃度の異なる森林生態系におけるスギ葉のリンの比較, 生物地球化学研究会, 山梨大学, 甲府市, 2017.11.11
- 3) 早川敦, 片野登, 石川祐二, 且高伸, 高橋正 (2017) 八郎湖流域の水質および元素循環の特徴と流域ガバナンス, 陸水学会, 日本陸水学会第 82 回大会 (仙北市), 2017.9.29
- 4) 太田仁志, 早川敦, 浅野亮樹, 村野宏達, 藤晋一, 石田朋子, 石川祐二, 高橋正 (2017) 海成堆積岩を主体とする河川源流域における硫黄脱室の評価-河川バンクの高含硫層における事例-, 日本土壌肥

- 料学会, 東北大学, 仙台市, 2017.9.5-7
- 5) 早川敦, 大貫華織, 阿部美里, 白岩康成, 石田朋子, 石川祐一, 高橋正 (2017) 高濃度リン湧出地点における地下水リン濃度の周期性とその要因の考察, 日本土壌肥料学会, 東北大学, 仙台市, 2017.9.5-7
  - 6) Hayakawa, A., Funaki, Y., Sudo, T., Asano, R., Watanabe, S., Ishikawa, Y., Hidaka, S. (2016) Catchment topography and the distribution of electron donors for denitrification control the concentration of nitrate in headwater streams of the Lake Hachiro watershed, INI2016 7<sup>th</sup> International Nitrogen Initiative Conference, Melbourne, Australia, 2016.12.4-8
  - 7) 太田仁志, 早川敦, 浅野亮樹, 村野宏達, 石川祐一, 高橋正 (2016) 八郎湖流入河川の源流域における硫黄脱窒の解明, 生物地球化学研究会, 岡山大学, 岡山市, 2016.11.18-20
  - 8) 浅野亮樹, 早川敦, 阿部みどり, 志村洋一郎, 小林弥生, 稲元民夫, 福島淳. 東日本大震災の津波浸水による農地土壌微生物群集への影響の長期的解析. 第30回日本微生物生態学会大会 2016年10月 (横須賀)
  - 9) 早川敦, 白岩康成, 石田朋子, 石川祐一, 日高伸 (2016) 秋田県西部の河川源流域におけるリン濃度分布 - 海成堆積岩地帯はリンのホットスポットである -, 日本土壌肥料学会, 佐賀大学, 佐賀市, 2016.9.20-22
  - 10) Murano, H., Yamano, Y., Suzuki, N., Yasuda, R., Asano, R., Hayakawa, A., Isoi, T. (2016) Investigation of analysis methods for sulfur compounds and their isotopic compositions in soils and sediments, 26th GOLDSCHMIDT, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan, 2016.6.26-7.1
  - 11) 早川敦, 白岩康成, 渡邊慎太郎, 石川祐二, 日高伸 (2015) 秋田県全域の渓流水におけるリン濃度の空間分布 - 八郎湖におけるリンのホットスポットの要因を探る -, 陸水物理研究会 2015 秋田大会, 秋田市, 2015.11.14
  - 12) 白岩康成, 早川敦, 石川祐一, 日高伸 (2015) 秋田県西部の海成堆積岩地帯は渓流水中リンの供給源である, 生物地球化学研究会, 十和田セッション, 十和田市, 2015.10.30-11.1
  - 13) 村野宏達, 山野由里菜, 鈴木夏, 早川敦, 磯井俊行 (2015) 土壌・底質中の形態別硫黄の分析法の検討, 日本土壌肥料学会, 京都大学, 京都, 2015.9.9-11
  - 14) 早川敦, 阿部美里, 浅野亮樹, 石川祐二, 日高伸 (2015) 八郎湖干拓地における高濃度リン地下水中のリン酸濃度の時空間変動日本地球惑星科学連合, 日本幕張メッセ, 千葉, 2015.5.24-28
  - 15) 阿部美里, 早川敦, 浅野亮樹, 石川祐一,

日高伸 (2014) 大潟村高濃度リン溶出地点における地下水リン酸濃度の時空間変動, 生物地球化学研究会, 京都大学フィールド科学教育研究センター, 京都, 2014.10.24-26

- 16) 早川敦, 浅野亮樹, 阿部美里, 石川祐一, 日高伸 (2014) 八郎湖干拓地土壌における硫黄脱窒-30 m コア試料から見た脱窒能と細菌群集構造の鉛直分布-, 日本土壌肥料学会, 東京農工大学, 東京, 2014.9.9-11

[図書] (計 2 件)

- 1) 早川敦 (2018) 流域から河川へのリン流出機構, 森林と物質循環, 柴田英昭編, 共立出版, pp.198(61-102), 査読有
- 2) 早川敦 (2017) 2-1-2 河川, 2-1 地球上での存在, 第2章リンの地球化学, リンの事典, 大竹久夫ほか編, 朝倉書店, pp.368 (36-37), 査読有

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

早川敦 (HAYAKAWA Atsushi)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号: 10450280

### (2) 研究分担者

浅野亮樹 (ASANO Ryoki)

新潟食料農業大学・食料産業学部・講師

研究者番号: 20646137

村野宏達 (MURANO Hirotatsu)

名城大学・農学部・准教授

研究者番号: 00570798

石川祐一 (ISHIKAWA Yuichi)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号: 60315603

日高伸 (HIDAKA Shin)

秋田県立大学・生物資源科学部・教授

研究者番号: 60457760

(平成28年4月1日より一般財団法人日本土壌協会に常務理事として転出したため, 本研究の研究分担者から外れた)

(3) 連携研究者 該当者なし

(4) 研究協力者 該当者なし