

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2013

課題番号：21580301

研究課題名(和文) アジアモンスーン地域における農業生産域からの大腸菌および肥料成分の流出抑制対策

研究課題名(英文) Study on Eliminating Efflux of Escherichia coli from and Nutrients from Farmlands in Asian Monsoon Areas

研究代表者

三原 真智人(MIHARA, Machito)

東京農業大学・地域環境科学部・教授

研究者番号：00256645

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の結果より、未熟堆肥を施用した畑地においては、E. coliや大腸菌群が表面流、浸透流によって流出し、表面流出では懸濁物質に伴って多く流出した。E. coli、大腸菌群の流出を効果的に抑制するには、高アルカリ性のフィルター材を持つ土砂溜を設置することが最も効果的であることが分かった。また、堆肥化過程においては風乾処理よりも添加材によるpH 9.0付近への調整が、発酵に影響なくE. coliや大腸菌群を殺菌できることが明らかとなった。特にアジアの発展途上国などでも、アルカリ材があればE. coliや大腸菌群の流出や拡大を抑制できると判断でき、その応用性は高いと判断できた。

研究成果の概要(英文)：Based on the study, it was indicated that E. coli and coliform bacteria released through both surface runoff and percolation. Thus, some of treatments such as grass buffer strips or sedimentation tank with filtering systems are applicable for eliminating E. coli and coliform bacteria efflux. In addition, pH control at around 9.0 with alkaline materials such as lime nitrogen or Heated Scallop-Shell Powder (HSSP) in fermentation process is effective to eliminate pathogenic bacteria without decreasing general bacteria. It is considered that the outcomes from this study may contribute well to the proper treatments of E. coli and coliform bacteria in Asian developing countries.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業土木学・農村計画学

キーワード：環境調和型農林水産 水質汚濁・土壌汚染防止・浄化 大腸菌 流出抑制対策

1. 研究開始当初の背景

農業生産域における営農活動は生産域における土壌特性や生態系に影響を与えるだけでなく、流域の水環境保全にも大きな影響を与える。特にタイ国やカンボジア国のようなアジアモンスーン気候に属する国々では、降雨強度の高いスコールが農地を流下する間に有機物を含んだ土壌粒子や肥料成分を巻き込んで、著しく水質の悪化した表面流となることがある。特に普通畑においては有機物を含む土壌や肥料成分の流出が著しくなり、水質汚濁の面源となることが数多く報告されている。

これらの国々では、近年、農薬散布に伴う現地農家の健康被害が頻発するとともに化学肥料の投入による土壌劣化と水環境汚染が深刻化しており、化学肥料や農薬に依存した慣行的な営農体系に加えて、有機農業を取り入れる農家が増加しつつある。しかし家畜糞尿を発酵過程なしにそのまま農地に散布しており、現地では農作物のみならず現地農家が使用する飲み水からも大腸菌が検出されることがある。

一部では家畜糞尿を発酵させる堆肥づくりが徐々に進んでいるものの、十分な切り返し作業や適切な水分管理が行なわれず、発酵不足の未熟堆肥の増加を招いている。発酵過程で発生する発酵熱が 60 度に達すると大腸菌は死滅するものの、水分過多のため十分な発酵熱を得られないのである。そのため家畜糞尿そのもののみならず、発酵不足の未熟堆肥中にも大腸菌 (*E. coli*) などの病原性を持つ菌が生存している可能性があり、特に牛糞を原料とするものにはその傾向が著しいと報告されている。

また、これまで土壌深度別や水環境における大腸菌数については比較的議論されているものの、国内外において有機物を含む土壌粒子や肥料成分を巻き込むような土壌侵食が発生する際の大腸菌の動態とその保全対策については、十分に研究されているとはいえない。

2. 研究の目的

これまで土壌中や水環境における大腸菌数の変動については議論があるものの、家畜糞尿や未熟堆肥を施した畑地において表面流が発生する際の大腸菌の動態については、ほとんど議論されていない。畑地から大腸菌が流出した場合、水質汚染や河川による病原菌の広範囲の移動、河川水中の豊富な栄養源による増殖などの問題が生じることが懸念される。

そこで平成 21 年度から 25 年度の 5 年間に渡る本研究では、畑地からの大腸菌の流出特性を土壌や肥料成分の流出との関連性から調べるとともに、家畜糞尿や未熟堆肥中の大腸菌数、施肥から表面流発生までの期間、土壌水分状態、温度条件、土壌流出量等に基づいて畑地から流出する大腸菌について観測

を進めていく。

具体的には、家畜糞尿、未熟堆肥、完熟堆肥を施した模型斜面を用いて、人工降雨下における土壌侵食に伴う大腸菌の流出特性を定量的に把握し、土壌や肥料成分の流出との関連を調べていく。併せて、畑地からの大腸菌のみならず土壌や肥料成分の流出を抑制できる保全対策についても検討していく。

特に保全対策については、家畜糞尿における発酵過程の管理、施肥前の風乾処理等の牛糞堆肥中の大腸菌数を削減する対策について取り組む他、畑地で発生した大腸菌が下流域へ流出するのを抑制できる緩衝帯の評価等について研究を進める予定である。

さらに本研究では上記に加えて、日本のみならずタイ国やカンボジア国の現地農家に受け入れられる技術についても検討していく。如何に適正な技術であっても、現地農家に受け入れられなければ技術を普及することが難しい。そのため、タイ国やカンボジア国の現地農家の農法や生活習慣なども考慮して、現地農家に受け入れられる技術についても検討を進めていく。

3. 研究の方法

(1) 調査対象流域の選定と基礎調査

小流域の調査対象地を設定して、農地からの大腸菌や肥料成分の流出について、現地観測を進めていく。

(2) 畑地からの大腸菌の流出特性の評価

家畜糞尿、未熟堆肥、成熟堆肥中に存在する大腸菌を XMG 寒天培地で培養してコロニー数を調べるとともに、これらの牛糞堆肥が施された畑地からの大腸菌の流出特性を土壌や肥料成分の流出との関連性から調べていく。肥料成分については、特に窒素、リン、炭素成分を中心に分析を進める。また大腸菌数の分析には現有施設であるオートクレープやクリーンベンチを利用する。

併せて、モデル実験として大学内の人工降雨装置下に模型斜面ライシメータを設置して、降雨に伴う侵食現象と家畜糞尿、未熟堆肥、成熟堆肥を施した模型斜面ライシメータからの大腸菌の流出特性を土壌や肥料成分の流出との関連性から調べていく。

(3) 大腸菌の下流域への流出抑制を目指した保全対策の検討

家畜糞尿における発酵過程の管理、施肥前の風乾処理、pH 調整等の牛糞堆肥中の大腸菌数を削減する保全対策について検討する以外にも、畑地で発生した大腸菌が下流域へ流出するのを抑制できる緩衝帯の評価等について研究を進めていく。

4. 研究成果

(1) 埼玉県 A 沼における大腸菌の流出特性に関する検討

埼玉県 A 沼付近の野積み現場周辺の水中及び底泥中における *E. coli*、大腸菌群数の観測を実施した。その結果、野積み現場周辺に多くの *E. coli*、大腸菌群が検出され、降雨に伴って野積み現場から *E. coli*、大腸菌群が流出していることが明らかとなった。また、水中よりも底泥に多くの *E. coli*、大腸菌群が生残しており、特に底泥が蓄積しやすい土砂溜において多くの *E. coli*、大腸菌群が生残していることが分かった。このことから、土砂溜に *E. coli*、大腸菌群を殺菌する仕組みを付与することで、*E. coli*、大腸菌群流出の抑制に寄与できると推察できた。

(2) 人工降雨を用いた大腸菌の流出特性に関する検討

人工降雨を用いた大腸菌群の流出特性の解明にあたっては、東京農業大学富士畜産農場から採取した牛糞、2 週間発酵させた一次発酵堆肥を使用した。人工降雨装置下に牛糞堆肥を表面施肥、すき込みの 2 種類の方法で施用した模型斜面ライシメータを設置して、流出実験を行って流出水中の *E. coli*、大腸菌群数を分析した。その結果、全ての試験区において、2 時間の降雨実験で施用した牛糞堆肥中の *E. coli*、大腸菌群と同程度の量が表面流、浸透流双方を通じて流出していることが明らかとなった。

あわせて、表面流出水中の懸濁物質と上澄み液を濾過したところ、80~90%の *E. coli*、大腸菌群が懸濁液中より検出され、糞便などの懸濁物質に伴って流出していることが分かった。このことから、畑地で適用されている土壌・肥料成分の流出抑制対策によって、ある程度 *E. coli*、大腸菌群の流出を抑制できると判断できた。

また、牛糞の発酵段階別に比較すると、施用方法に関わらず牛糞を施用した試験区からの *E. coli*、大腸菌群の流出が最も高くなることから、畑地での施用前に十分な発酵を経て、牛糞堆肥中の *E. coli*、大腸菌群数を減少させることが重要であると判断できた。

(3) 緩衝帯を用いた大腸菌の流出抑制に関する検討

E. coli や大腸菌群は糞便などの懸濁物質に伴って流出するという研究結果を受け、土壌・肥料成分の流出抑制対策で用いられる緩衝帯の設置が、畑地からの *E. coli* や大腸菌群の流出に与える影響について模型斜面実験を実施して検証を試みた。人工降雨装置下に牛糞、一次発酵堆肥を施用した模型斜面ライシメータを設置し、下流部に緩衝帯として玉龍 (*Ophiopogon japonicus* Ker Gawl.) を設置し、流出水中の *E. coli*、大腸菌群数を測定した。その結果、牛糞では緩衝帯による流出抑制効果が見られなかったが、一次発酵堆肥を施用した試験区においては緩衝帯の設置により 92%の *E. coli* が捕獲され、緩衝帯による流出

抑制効果が見られた。これは、緩衝帯を通過できる微小な粒子に生残していた *E. coli* は堆肥の一次発酵過程において死滅してしまい、発酵を経ても *E. coli* が生残している大きな粒子は緩衝帯で捕捉され易かったためと考察した。一方、糞便の有無に依存しない大腸菌群については、発酵段階に関わらず流出抑制効果は見られなかった。このことから一次発酵堆肥を施用した場合、畑地の緩衝帯による *E. coli* の流出抑制は効果的であると判断できた。

(4) 土砂溜を用いた大腸菌の流出抑制に関する検討

土壌・肥料成分流出対策の一つであり、現地調査においても多くの *E. coli*、大腸菌群が検出された土砂溜に着目し、フィルター層による *E. coli*、大腸菌群の捕捉能について検討した。玉砂利、活性炭、石灰窒素の三種類のフィルター層を設置して流出抑制効果を比較した結果、玉砂利や活性炭のような物理的な捕捉に関しては明確な効果が見られなかった。しかし、石灰窒素のフィルター層を有する土砂溜においては *E. coli*、大腸菌群の流出を完全に抑制することができた。これは、石灰窒素によって水中の pH が *E. coli*、大腸菌群の生育限界である 9.0 を上回ったためであると考察した。また、このときの石灰窒素との接触時間は 10 分程度であった。これらのことから、石灰窒素のような高アルカリ性のフィルター材を設置し、10 分以上接触させるよう設計することで、土砂溜や沈砂池に *E. coli* や大腸菌群の流出抑制効果を付与できることが示された。

(5) 風乾処理における微生物相の生残

堆肥化過程において *E. coli*、大腸菌群を殺菌することを考えていく必要があると判断し、牛糞堆肥の発酵過程における風乾処理が堆肥中の微生物相に与える影響を調べた。牛糞、一次発酵堆肥を用いて風乾処理を 1 カ月間継続し、含水率を 10%まで低下させたものの、牛糞では完全に *E. coli*、大腸菌群を殺菌できず、さらに堆肥化に必要な一般細菌も減少してしまう結果となった。一方、一次発酵堆肥については、一般細菌の減少は生じたものの、完全に *E. coli*、大腸菌群が殺菌される結果となった。これらの結果から、発酵初期段階の堆肥に対する風乾処理は適切ではなく、少なくとも一次発酵の段階まで発酵させた後、風乾処理を行なうことが望ましいと考察できた。

(6) pH 調整における微生物相の生残

堆肥化に必要な一般細菌に影響の少ない抑制方法として、堆肥中の pH を 9.0 付近へ調整することが *E. coli*、大腸菌群および一般細菌に与える影響について評価した。pH 調整には石灰窒素または 1,000 °C で 1 時間加熱したホタテ貝殻の粉碎粉末のいずれかを添加することで、堆肥中の pH を pH 9.0 付近に調整した。調整後の試料を 37 °C に設定したインキュベータ内に静置し、微生物相の変化

を追った。その結果、石灰窒素、ホタテ貝殻焼成粉末のいずれにおいても、発酵段階に関わらず添加直後に完全に *E. coli* や大腸菌群が殺菌された。また、堆肥化に寄与する一般細菌について見ると、全ての試料において有意な変化は生じなかった。これらの結果から、堆肥の pH を 9.0 付近に調整することで堆肥化に影響なく大腸菌群の殺菌を行うことが可能であると考察できた。

(7) 成果のまとめ

これら一連の研究結果より、未熟堆肥を施用した畑地においては、*E. coli* や大腸菌群が表面流、浸透流によって流出し、表面流出では懸濁物質に伴って多く流出していることが明らかとなった。*E. coli* や大腸菌群の流出を効果的に抑制するには、高アルカリ性のフィルター材を持つ土砂溜を設置することが最も効果的であることが分かった。また、堆肥化過程においては風乾処理よりも添加材による pH 9.0 付近への調整が発酵に影響なく、*E. coli* や大腸菌群を殺菌できることが明らかとなった。

以上のことから、*E. coli* や大腸菌群が懸濁物質に伴って表面流出することが明らかとなった。あわせて、既存の土壌・肥料成分の流出抑制対策を改良することで *E. coli*、大腸菌群流出を抑えることができることが分かった。また、堆肥化過程において *E. coli*、大腸菌群の抑制とともに一般細菌数に大きな影響を与えない最適な pH が明らかとなった。このことから、今後の *E. coli* や大腸菌の流出抑制対策を確立する上で、重要な指標となると考えられる。特にアジアの発展途上国などでも、アルカリ材があれば *E. coli* や大腸菌群の流出や拡大を抑制できると判断でき、その応用性は高いと考えられる。

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 27 件)

最も関連した 5 論文のみ掲載した。

① Yuta Ishikawa and Machito Mihara, Changes in Surviving Microorganism in Cow Manure with Adding Lime Nitrogen, International Journal of Environmental and Rural Development, 4-2, 2013, 33-37. 査読有

② Yuta Ishikawa and Machito Mihara, Changes in *Escherichia coli* Efflux from Farmland by Surface Runoff and Percolation under Different Application Methods of Manure, International Journal of Environmental and Rural Development, 3-2, 2012, 188-192. 査読有

③ Yuta Ishikawa and Machito Mihara, Changing in Surviving *E. coli*, Coliform Bacteria and General Bacteria in Manure with Air Drying Treatment, International Journal of Environmental and Rural Development, 2-1, 2011, 88-92. 査読有

④ Yu SAITO and Machito Mihara,

Management of Manure Taking into Account of *E. coli* Loss from Farmland, International Journal of Environmental and Rural Development, 1-1, 2010, 175-180. 査読有

⑤ Yuta Ishikawa and Machito Mihara,

Characteristics of *E. coli* Loss under Different Fertilization of Manure, International Journal of Environmental and Rural Development, 1-2, 2010, 84-87. 査読有

[図書] (計 5 件)

① Machito Mihara, 他 8 名, Institute of Environment Rehabilitation and Conservation, Restoring Satoyama Landscapes in Cambodia, 2013, 44

② Lalita Siri wattananon, Machito Mihara and Bunthan Ngo, United Nations University, Institute of Advanced Studies, Traditional Knowledge and Biodiversity, 2012, 124 (担当部分 54-57)

③ Machito Mihara, Lalita Siri wattananon, Kumiko Kawabe and Bunthan Ngo, United Nations University, Institute of Advanced Studies, Towards More Sustainable Consumption and Production Systems and Sustainable Livelihoods, 2012, 130 (担当部分 78-85)

④ 三原真智人編著、他著者 9 名、特定非営利活動法人環境修復保全機構、国際環境協力ガイドブック・東南アジアにおける持続可能な農業開発に向けて、2010、87

⑤ Machito Mihara, Akimi FUJIMOTO et al., Institute of Environment Rehabilitation and Conservation, Sustainable Farming Practices for Environmental Conservation, 2009, 41

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三原 真智人 (MIHARA, Machito)

東京農業大学・地域環境科学部・教授

研究者番号：00256645

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

上野 貴司 (UENO, Takashi)

特定非営利活動法人環境修復保全機構・

研究センター・研究員

研究者番号：60713766

山路 永司 (YAMAJI, Eiji)

東京大学大学院・新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：10143405