

10-2 土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に関する研究

水質チーム	上 席 研 究 員	岡本誠一郎
	総括主任研究員	小森 行也
	主任 研究員	平山 孝浩
	主任 研究員	對馬 育夫
	研 究 員	武田 文彦

【要旨】

本研究は、流域からの汚濁負荷が閉鎖性水域の水質におよぼす影響の解明と対策手法の提案を目的とし、環境の変化が水質・底質に与える影響およびそれらが発生する藻類種に与える影響の解明を試みている。これまでの研究では、気象・水象データから近年のアオコ増殖要因を検討し、降雨量、風向などが、藻類の異常増殖を助長しうる要因であることを見出してきた。今年度は、霞ヶ浦において、台風による出水前後の底質を採取し、嫌気・好気条件下で 20 日間の溶出試験を行った。その結果、流入河川に近い地点で、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 溶出速度が台風通過後に大幅に上昇していることを確認した。また、次世代シークエンサーを用いた菌叢解析の結果、霞ヶ浦では、流入河川に近い地点において、表層と底層に菌叢の差が見られず、底質が攪乱されている可能性が考えられ、台風通過後は、硝化ポテンシャルが他の地点よりも低かった可能性が考えられた。
キーワード：閉鎖性水域、富栄養化、底質からの栄養塩溶出、微生物菌叢解析

1. はじめに

わが国の平野部に多く存在する浅い湖沼は、そのほとんどが 1970 年代以降、急速に富栄養化が進行し、水質が悪化した。一方、水需要の増大に伴い、富栄養化した湖沼に対しても水源としての機能が期待されるようになり、水質改善・管理が求められている¹⁾。湖沼の富栄養化の要因として、降雨や湖沼に流入する河川からの栄養塩類等といった外部負荷²⁾³⁾と、湖沼底質から溶出する窒素やリン、および微量金属類等の内部負荷⁴⁾⁶⁾に大別され、それに対応した様々な対策が施されているものの、湖沼の水質環境基準の達成率は 50% 前後⁷⁾で、河川・海域に比べ水質改善が遅れている。

本研究は、流域からの汚濁負荷が閉鎖性水域の水質におよぼす影響の解明と対策手法の提案を目的とし、環境の変化が水質・底質に与える影響およびそれらが発生する藻類種に与える影響の解明を試みる。我々はこれまでに、霞ヶ浦を対象に底質の溶出試験を行い、浚渫が栄養塩溶出に与えた効果を把握し、近年のアオコ発生前後の気象・水象データから藻類増殖要因を検討した⁸⁾⁹⁾。また、

雨天時負荷の増加や東向風による藍藻の集積がアオコ増殖の要因の一つであることを見出した⁹⁾¹⁰⁾。さらに、昨年度、台風通過後の底質を用いた調査では、底泥中の含有栄養塩類・有機物量と、溶出速度の関係が逆転し、雨天時流入汚濁物による影響が示唆された¹⁰⁾。したがって、今年度は、昨年度同様、台風等の大規模出水時に焦点を当て、出水前後の底質を用いた溶出試験を行い、その影響の把握を試みた。また、底質はこれまでブラックボックスとして扱われてきており、底質からの栄養塩溶出メカニズムに関する知見は極めて乏しい。そこで、本研究では、次世代シークエンサーを用いて、底質中の細菌群を網羅的に解析し、原位置 (*in situ*) での物質の挙動や環境状態を推察した。なお、本研究で対象とした湖沼は、水深が浅く温度成層ができにくい富栄養化湖の代表である霞ヶ浦 (平均水深 3.9 m、最大水深 7.3 m、湖面積 171 km^2) である。霞ヶ浦は平成 21 年度には水質が全国ワースト 1 となったが、その後、改善傾向にあり、平成 25 年度では、COD が 6.8 mg/L (平成 21 年度は 9.5 mg/L) で湖沼水質保全計画の目標値である 7.4 mg/L を 22 年ぶ

りに下回った¹¹⁾。また、全窒素は1.3 mg/L (平成21年度は1.1 mg/L)、全リンは0.089 mg/L (平成21年度は0.10 mg/L) で、ほぼ横ばい状態が続いている¹¹⁾。

2. 実験方法

2.1 サンプルング

本実験に供した底質は図1に示す3地点で採取した。St.1は湖心(36°02'06" N, 140°24'27" E)、St.2は掛馬沖(36°03'03" N, 140°15'00" E)で、いずれも国交省の観測所の付近である。St.3は桜川河口からおよそ900 m沖の地点で土浦港沖(36°04'35" N, 140°13'42" E)とした。なお、平成24年度および25年度にも同様の地点で採水している^{9,10)}。今年度のサンプルングは2014(平成26)年9月と10月の計2回行い、1回目のサンプルングは降雨の影響を避けるため、晴天が連続した日に行い、2回目のサンプルングは出水が底質からの栄養塩の溶出に与える影響を調査するため、2度の台風(台風18号および19号)が通過した5日後に行った(図2)。なお、サンプルング実施前の2週間に観測した降雨は累計200 mm以上に達し、多くの濁質成分が河川から霞ヶ浦に流入したものと考えられる。また、台風18号は7月以降初めて本土に上陸した台風であった。

底質のサンプルングは、溶出試験用と底質分析用に2通りの方法で実施し、いずれも「底質の調査・試験マニュアル」¹²⁾に記載の方法に従い、深さ約30 cmのコアサンプルを潜水土により採取した。溶出試験用の底質は内径20 cmのアクリル製カラムを用い、1地点につき4サンプル採取した。底質分析用の底質は内径5 cmのアクリルカラムを用い、陸揚げした後、速やかに保冷し、実験室に持ち帰り分析した。

湖水のサンプルングは船上からステンレスポンプを使用し、水面から0.5 mおよび泥面上0.5 mの2層から約80L採水した。採水した試料の一部は水質分析に供し、残りはGFBフィルターでろ過し、後述する溶出試験に供した。

2.2 現地観測

各採水地点で、鉛直方向50-100 cm スパンでpH、DO、EC、濁度、水温を多項目水質計(HORIBA、マルチ水質チェッカ U-50)を用い、計測した。また、採取した底質の泥色、泥臭、泥温、ORPを観測・計測した。

2.3 溶出試験

内径20 cmのアクリル製カラムで採取した底質は、底層



図1 調査地点と土浦入における流入河川

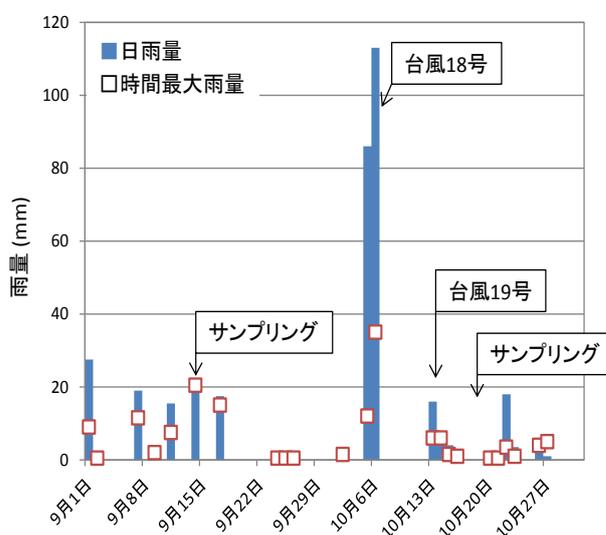


図2 土浦アメダスの雨量観測結果

を乱さぬよう慎重に実験室まで運搬し、カラム内部の水を引き抜いた後、現地で採水しGFBフィルターでろ過した水を静かに注入し、各実験条件下で溶出試験を行った。溶出試験は30°C暗所で20日間行い、好気条件ではDOが8.0 mg/L程度となるよう空気曝気を行い、嫌気条件ではDOが1.0 mg/L以下となるよう窒素曝気を行った(N=2)。なお、溶出試験期間中、水質分析用のサンプルングを計8回行った(350 mL/回)。引き抜いた分の水は補充せず、そのまま試験を継続し、水質分析で得た各種濃度は、引き抜いた量を考慮し、再計算を行った。

2.4 分析

溶出試験時の溶液中のNH₄-N、NO₂-N、NO₃-N、T-N、PO₄-P、T-Pはオートアナライザー(Bran Luebbe、TRAACS2000)により測定した。Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、

Cl⁻、SO₄²⁻はイオンクロマトグラフ（日本ダイオネクス、DX-120 および ICS-1100）により測定した。Al、Mn、Fe、Cu、Zn、As、Mo、Cd、Pb 等の金属は ICP - MS (Thermo Fisher SCIENTIFIC、X7CCT) により分析した。また、底質中の COD_{Mn}、TOC、T-P、T-N、金属類は底質調査方法（平成 24 年 8 月環境省水・大気環境局）」¹³⁾ に記載の方法に従って前処理を行い、定量分析を行った。

2.5 微生物叢解析

現地採泥サンプルの表層（0-5 cm）および溶出試験後の試料表層（0-5 cm）および底層（20-30 cm）から、RNA を抽出し、cDNA に逆転写した後、16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を対象に MiSeq (Illumina) を用いてシーケンス解析を行った。RNA 抽出には、ISOIL for RNA（ニッポンジーン）を用い、逆転写には PrimeScript One Step RT-PCR Kit Ver.2 (TaKaRa) を用いた。逆転写された cDNA を鋳型として真正細菌の 16S rRNA 遺伝子領域を標的としたプライマー（S-D-Bact-0341-b-S-17 および S-D-Bact-0785-a-A-21）¹⁴⁾ にオーバーハングアダプター配列（F: 5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG-, R: 5'-GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTATAA GAG ACAG）を付加したものをを用い、PCR 増幅を行った。PCR 反応条件は初期変性を 95℃で 3 分行った後、95℃で 30 秒、55℃で 30 秒、72℃で 30 秒のサイクルを 25 サイクル行った。PCR 増幅産物は AMPure XP kit (Beckman Coulter Genomics) を用いて精製した。DNA シーケンシングには Miseq reagent Kit v3 (600 サイクル、Illumina) を用いて解析した。解析で得た各リードの塩基配列のキメラチェックは USEARCH¹⁵⁾ を用い、Operational Taxonomic Unit (OTU)-picking およびクラスター解析は QIIME¹⁶⁾ を用いた。各 OTU の同定には Greengenes データベース ver. 13_8 をリファレンスとした。

3. 結果と考察

3.1 現地観測および底質分析

サンプリングを実施した 9 月と 10 月の湖水および底質の現地観測結果を表 1-3 に示す。台風通過前の 9 月に行ったときは、St.1（湖心）の DO が他の地点と比べ、やや低いものの下層においても DO が 5.5-7.3 mg/L であった。一方、台風通過後の St.3（土浦港沖）では、pH が他の地点よりも低く、下層では DO が 0.6 mg/L まで低下しており、貧酸素状態になっていることが伺える。また、底質中の有機物量、栄養塩濃度を表 4 に示す。この結果、底質中に含まれる有機物量は、台風通過前、通過後も

表 1 9 月 15 日の現地観測結果（台風通過前）

地点	水深 (m)	pH [-]	EC (ms/cm)	DO (mg/L)	濁度 [-]	水温 (°C)
St.1 (湖心)	0.0	7.7	0.278	9.7	11.4	23.9
	0.5	7.1	0.278	7.4	11.4	24.0
	1.0	7.1	0.278	7.0	11.6	24.0
	1.5	7.1	0.279	6.8	11.0	24.0
	2.0	7.0	0.280	6.7	11.0	24.0
	2.5	7.0	0.279	6.3	11.7	24.0
	3.0	7.0	0.280	6.3	11.7	24.0
	3.5	7.0	0.280	6.1	11.4	24.0
	4.0	7.0	0.280	6.2	12.1	24.0
	4.5	7.0	0.281	6.2	11.9	24.0
	5.0	6.9	0.281	6.6	12.7	24.0
5.5	6.9	0.280	6.0	13.5	24.0	
6.0	7.0	0.280	6.3	12.0	24.0	
St.2 (掛馬沖)	0.0	8.3	0.255	9.6	12.0	24.6
	0.5	8.0	0.256	9.1	12.1	24.6
	1.0	7.8	0.256	8.4	11.9	24.5
	1.5	7.6	0.260	8.1	12.4	24.3
	2.0	7.5	0.260	8.2	12.7	24.3
	2.5	7.5	0.260	6.5	12.0	24.1
	3.0	7.4	0.261	6.9	14.5	24.1
	3.5	7.3	0.261	7.1	18.0	24.0
	4.0	7.4		7.3		24.0
St.3 (土浦港沖)	0.0	8.0	0.261	9.6	9.9	25.0
	1.0	7.8	0.262	9.5	9.5	24.9
	2.0	7.4	0.262	8.6	10.2	24.8
	3.0	7.5	0.262	8.2	9.8	24.7
	4.0	7.2	0.263	8.6	9.9	24.6
	5.0	7.1	0.263	8.3	11.5	24.5
	6.0	7.0	0.263	7.3	10.0	24.5
	7.0	6.9	0.264	7.0	10.8	24.5
	8.0	6.9	0.264	7.0	11.0	24.4
	8.5	6.7	0.265	5.5	18.4	24.4

表 2 10 月 18 日の現地観測結果（台風通過後）

地点	水深 (m)	pH [-]	EC (ms/cm)	DO (mg/L)	濁度 [-]	水温 (°C)
St.1 (湖心)	0.0	7.4	0.239	10.2	15.0	18.9
	0.5	7.4	0.239	10.3	15.0	18.9
	1.0	7.3	0.238	8.3	15.6	18.9
	1.5	7.3	0.238	8.3	15.2	18.9
	2.0	7.2	0.238	7.7	15.2	18.9
	2.5	7.2	0.234	8.1	15.2	18.9
	3.0	7.1	0.238	7.8	15.0	18.9
	3.5	7.1	0.238	7.8	15.1	19.0
	4.0	7.1	0.238	7.6	15.8	19.0
	4.5	7.1	0.238	7.5	16.2	19.0
	5.0	7.0	0.239	7.5	15.6	19.0
5.5	7.0	0.239	7.5	16.1	19.0	
6.0	7.0	0.239	7.4	16.9	18.9	
St.2 (掛馬沖)	0.0	7.5	0.218	9.4	12.2	19.5
	0.5	7.5	0.218	9.4	12.2	19.5
	1.0	7.5	0.219	9.3	13.2	19.3
	1.5	7.4	0.218	9.0	12.9	19.1
	2.0	7.2	0.217	8.7	12.9	18.9
	2.5	7.1	0.216	8.6	12.9	18.9
	3.0	7.0	0.217	8.5	12.4	18.9
	3.5	7.0	0.218	8.4	14.4	18.8
	4.0	7.0	0.218	8.1	20.4	18.8
St.3 (土浦港沖)	0.0	6.5	0.203	10.0	9.7	19.3
	1.0	6.6	0.203	9.2	9.0	19.8
	2.0	6.4	0.203	8.0	9.9	19.0
	3.0	6.3	0.203	7.2	9.8	18.9
	4.0	6.2	0.202	7.2	9.4	18.9
	5.0	6.2	0.202	7.1	10.2	18.8
	6.0	6.2	0.201	7.1	11.8	18.8
	7.0	7.0	0.201	7.0	14.2	18.8
	8.0	6.2	0.200	0.6	29.5	18.7
	9.0	6.1	0.200	0.7	35.9	18.7

表3 採取した底質の状態

9/15(台風前)	泥色	泥臭	泥温 (°C)	ORP (mV)
St.1 (湖心)	灰茶	無臭	22.6	-128
St.2 (掛馬沖)	淡灰茶	無臭	23.4	-160
St.3 (土浦港沖)	淡緑茶	無臭	22.3	-165

10/18(台風後)	泥色	泥臭	泥温 (°C)	ORP (mV)
St.1 (湖心)	灰茶	無臭	19.6	-119
St.2 (掛馬沖)	淡灰茶	無臭	19.8	-154
St.3 (土浦港沖)	淡緑茶	無臭	20.0	-165

表4 底質中の有機物・栄養塩濃度

	St.1 (湖心)		St.2 (掛馬沖)		St.3 (土浦港沖)	
	台風前	台風後	台風前	台風後	台風前	台風後
COD _{Mn}	40.1	52.6	28.4	26.3	27.3	19.0
TOC	44.8	53.2	24.2	27.7	31.5	23.1
全窒素	5.6	6.9	2.7	3.1	3.8	2.6
全りん	0.8	1.2	0.5	0.8	1.1	0.9

y)

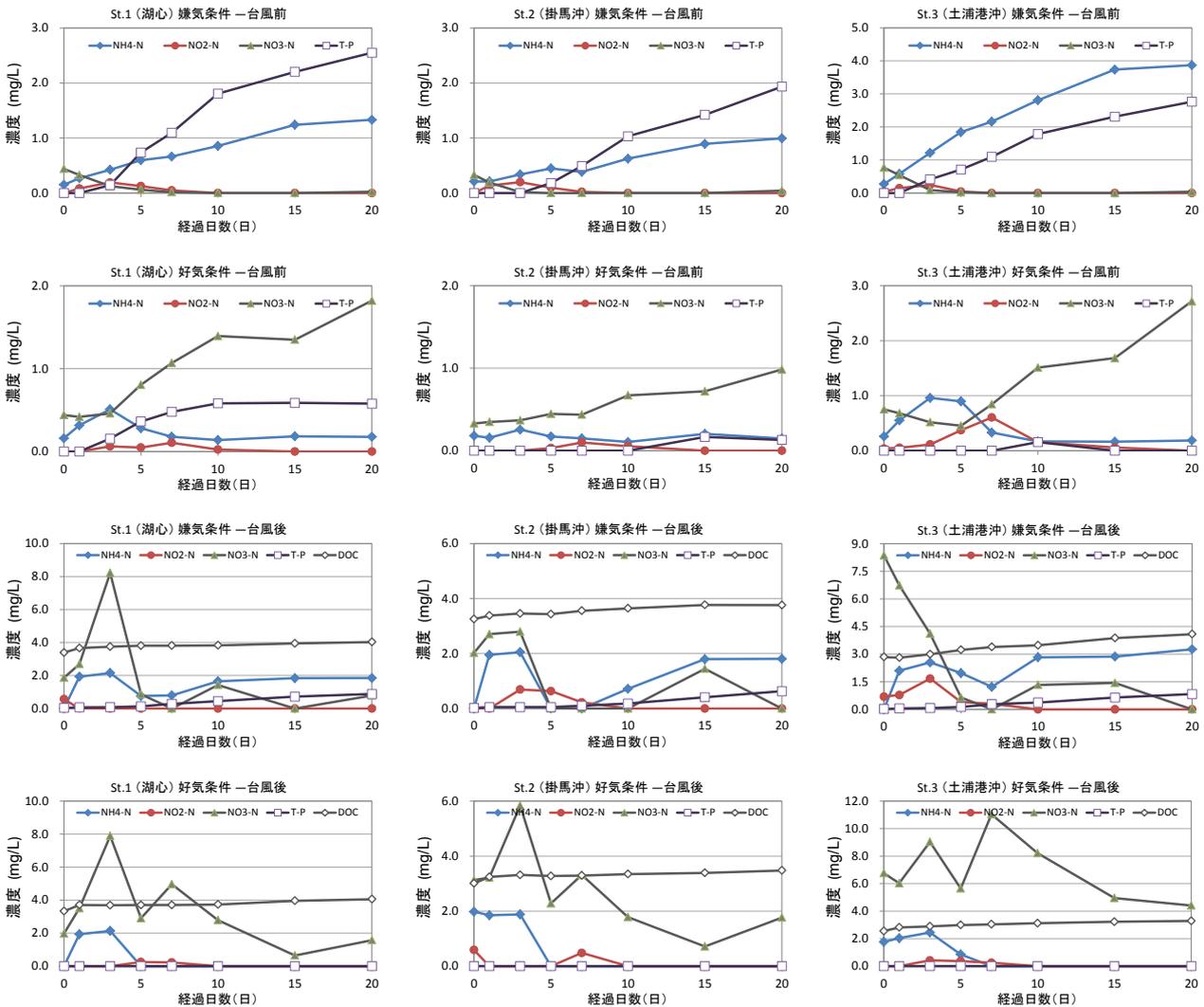


図3 溶出試験時のバルク内の各物質濃度 (サンプル引き抜きを考慮して算出)

に、St.1 (湖心) で最も高く、台風通過後には増加していた。St.2 (掛馬沖) では、台風通過前後で大きな変化はなくほぼ一定であった。St.3 (土浦港沖) は、台風通過後に減少していた。恐らく、土浦港沖は他の採取地点と比べ、流入河川からの影響を受けやすく、台風の影響に伴い河川から流入した有機物量自体は他の地点と比べ

多かったと推察される。その台風により流入してきた有機物が底泥の巻き上げに伴う急激な微生物反応により分解され、pHとDOの低下を引き起こしたと考えられる。

3.2 溶出試験

台風通過前後に採取した霞ヶ浦の底質を用いた溶出試

表5 底質中の金属濃度

		Mn	Al	Fe	Zn	Cu	As	Mo	Cd	Pb
台風通過前	St.1(湖心)	760	76,000	48,000	93.6	55.5	15.3	0.3	0.3	21.6
	St.2(掛馬沖)	860	54,000	51,000	71.2	39.5	16.9	1.3	0.2	13.8
	St.3(土浦港沖)	1,210	68,000	47,000	140.5	56.1	14.4	1.2	0.3	23.1
台風通過後	St.1(湖心)	920	47,000	42,000	95.7	58.1	15.3	0.7	0.4	28.7
	St.2(掛馬沖)	950	95,000	56,000	89.1	55.2	13.9	0.4	0.2	16.7
	St.3(土浦港沖)	780	45,000	36,000	114.6	41.8	10.8	1.0	0.3	16.6

表6 溶出試験時における金属類溶出率 (%)

		Mn	Al	Fe	Zn	Cu	As	Mo	Cd	Pb	
嫌気条件下	台風通過前	St.1(湖心)	0.49	0.0	0.0	-0.2	-0.1	1.5	-7.8	-0.1	0.0
		St.2(掛馬沖)	0.20	0.0	0.0	-0.8	-0.2	2.9	-1.0	-0.4	0.0
		St.3(土浦港沖)	0.36	0.0	0.0	-0.3	-0.2	4.3	-1.6	-0.3	-0.1
	台風通過後	St.1(湖心)	0.50	0.0	0.0	-0.9	-0.1	3.3	-3.3	0.3	-0.1
		St.2(掛馬沖)	0.21	0.0	0.0	0.0	-0.2	6.3	1.2	-0.1	0.2
		St.3(土浦港沖)	0.45	0.0	0.0	-0.2	-0.4	7.9	-11.1	-4.2	-0.8
好気条件下	台風通過前	St.1(湖心)	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.2	-13.1	-0.4	0.0
		St.2(掛馬沖)	0.0	0.0	0.0	0.2	-0.1	0.2	0.0	0.0	0.0
		St.3(土浦港沖)	0.0	0.0	0.0	-0.8	-0.1	0.2	-0.7	-0.1	0.0
	台風通過後	St.1(湖心)	0.0	0.0	0.0	-1.6	0.2	0.3	-2.5	0.0	0.4
		St.2(掛馬沖)	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	-0.7	2.7	-0.5	0.0
		St.3(土浦港沖)	0.0	0.0	0.0	-0.8	0.0	0.2	-0.6	0.1	-0.2

験を行った(30℃暗所、嫌気および好気条件)。図3に水中の溶存態窒素(NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N)および総リン(T-P)濃度の経日変化を示す。台風通過前の嫌気条件下では、どの系列でもNH₄-NおよびT-Pが時間とともに増加した。台風通過後の嫌気条件下では、台風の影響により湖水のNO₃-N濃度が台風通過前の濃度よりも高く、St.3(土浦港沖)では、溶出試験開始直後からNO₃-Nは減少した(恐らく脱窒反応)が、St.1(湖心)やSt.2(掛馬沖)では一旦上昇した後、低下した。好気条件下では、台風通過前では、どの系列でもNO₃-Nの増加が確認された。また、St.1(湖心)でT-Pの増加が10日目まで確認され、その後は一定であった。台風通過後の好気条件下では、増減はあるもののNH₄-N、NO₃-Nは減少傾向にあり、T-Pも溶出が抑制されていた。

表5および表6に底質に含まれる微量金属(Al、Mn、Fe、Cu、Zn、As、Mo、Cd、Pb)の測定結果と溶出試験後の溶出率を示す。なお、ここで示す溶出率は、底泥表層2cmまでに存在する微量金属を基準とし、溶出試験20日間で水層に移行した量を基に算出した。底質の金属組成はAlとFeがほとんどで、1%弱の割合でMnが含まれており、それ以外は0.0002%-0.1%と非常に微量に含まれる程度である。溶出試験の結果、台風通過前後では各金属の溶出率に大きな差は見られなかった。また、地点間の溶出率にも大きな差は見られなかった。実験条件の違いを比較した場合、嫌気条件下では、MnとAsの溶出率が高く、AlとFeを除く大部分は溶出試験期間中に濃

度が低下していた。一方、好気条件下では、MnとAsは溶出するものの、溶出率は嫌気条件下と比較すると、大幅に抑えられていた。台風通過により、濁質成分の流入や強風による底質の巻き上げ等の影響は、底質からの金属の溶出には直接影響しないものの、底層が嫌気状態になれば、Mn、Al、Fe、As等の金属の溶出が促進されることが示唆された。

溶出試験期間中に底質から溶出するNH₄-N、NO₃-NおよびT-Pの溶出速度を算出した結果を図4に示す。なお、図には我々が過去に実施した溶出試験の結果を台風通過前後後に区分し記載した^{9,10}。ただし、2012年の溶出試験は20℃で溶出試験を行っているため、溶出速度を比較するには注意が必要である。それらの結果、NH₄-Nの溶出速度は、嫌気条件下で台風通過後に著しく増加しており、St.3(土浦港沖)が最も大きかった。また、PO₄-Pの溶出速度は2013年の台風通過後に採取した底質では、非常に高いが、2014年の調査では、台風通過後にむしろ低下していた。恐らく、2013年の台風では、流入汚濁物に含まれるリンは、それまでに溶出の履歴のない、比較的溶出し易い形態で、流入してきたと思われるが、2014年の台風では、流入汚濁物の影響は少なく、強風による底質の巻き上げがあったことが推測される。中菌らの研究によると¹⁷⁾、嫌気条件下で底質の巻き上げが起こった場合、巻き上げそのものによる影響はPO₄-Pでは少ないが、NH₄-Nは影響を受けやすく溶出量が増加するとある。すなわち、St.3(土浦港沖)は、雨天時に流入河川から

運ばれる汚濁物の影響も受けやすく、さらに、強風による底質の巻き上げも起こりやすい地点であると言える。好気条件下での $\text{NH}_4\text{-N}$ の溶出速度を比較した場合においても、本来、好気条件であれば、溶出してこない $\text{NH}_4\text{-N}$ が台風通過後の St.3 のみで溶出し、さらに $\text{NO}_3\text{-N}$ が生成されていない。このことは、何らかの影響により硝化反応が抑制されていることの証左となり得るだろう。

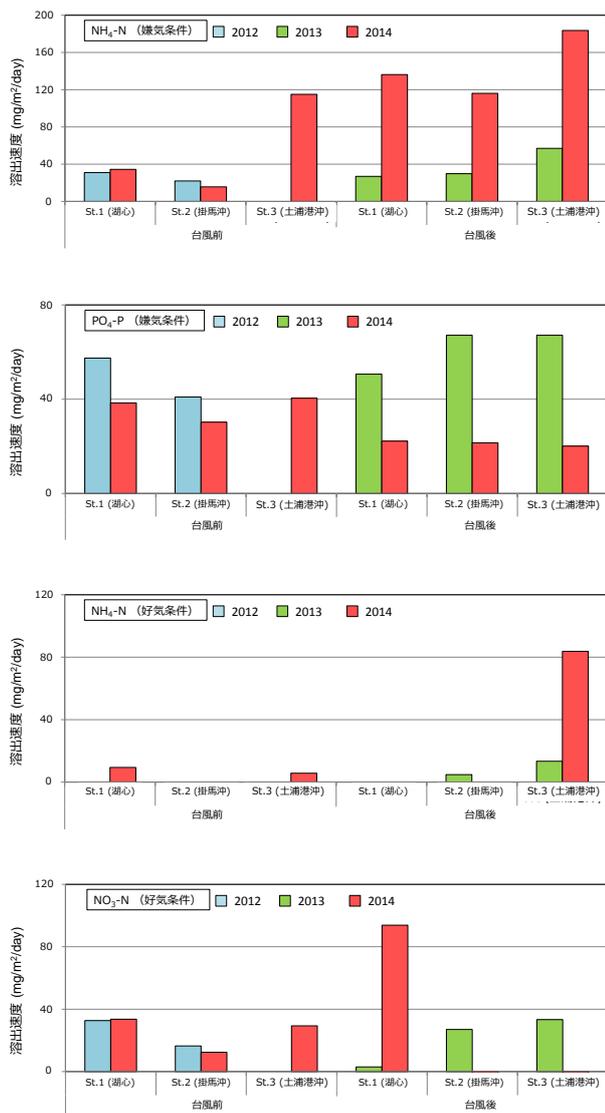


図4 溶出試験時の栄養塩溶出速度

3.3 微生物菌叢解析

各サンプルから約 10 万リードの塩基配列を取得 (全 30 サンプル) し、QIIME による種の同定およびクラスター解析を行った結果を図 5 に示す。なお、図には Class

別に分類した結果を示す。その結果、サンプル間の菌叢構造に大きな違いはなく、全てのサンプルで Proteobacteria が最も多く (平均 51.8%、S.D. 4.0)、次いで、Nitrospirae (13.1%、2.5)、Firmicutes (7.5%、1.1)、Actinobacteria (5.5%、0.7) Verrucomicrobia (3.6%、1.5)、Chloroflexi (2.9%、1.0)、Bacteroidetes (2.0%、1.0) となっていた。また、Proteobacteria の中では、St.1 (湖心) では Gammaproteobacteria が最も多く検出され、St.2 (掛馬沖) では、表層のサンプルでは Deltaproteobacteria が、底層のサンプルでは Betaproteobacteria が最も多く検出される傾向があった。St.3 (土浦港沖) では、表層、底層に関わらず、Betaproteobacteria と Deltaproteobacteria がほぼ同程度含まれていた。

代表的なアンモニア酸化細菌 5 属に注目すると、Nitrosomonas sp. および Nitrosolobus sp. は検出されず、また、その他の Nitrosococcus sp.、Nitrosovibrio sp.、Nitrosospira sp. も全体のわずか 0.0025-0.0054% に相当するに過ぎなかったが、St.1 (湖心) では、Nitrosococcus sp. が優占し、St.2 (掛馬沖) の底層では、Nitrosospira sp. が優占、表層では Nitrosococcus sp. が優占しており、表層・底層間で明確な差が表れていた。St.3 (土浦港沖) では Nitrosovibrio sp. が比較的多く存在していた。一方、亜硝酸酸化細菌が属する Nitrospira 門に着目すると、St.3 (土浦港沖) は、亜硝酸酸化細菌が属する Nitrospira の検出割合が $5.0 \pm 0.3\%$ と St.1 ($10.4 \pm 1.2\%$) や St.2 ($11.4 \pm 1.4\%$) と比べ、低かった。また、Nitobacter や Nitrospina についてはどのサンプルからもわずかに検出されたのみであった。これらのことから、St.3 (土浦港沖) における硝化ポテンシャルが他の地点よりも低かった可能性が考えられる。

各サンプルの属レベルの菌叢構造を主座標分析した結果を図 6 に示す。各プロット間の距離が菌叢の類似度を示す。各地点のサンプルが近傍にプロットされることから、各地点に特有の菌叢を構成していることが示唆された。また、台風通過前後で、各地点での現地サンプルの菌叢は大きく変化しているものの、溶出試験後のサンプルでは菌叢の変化は大きくなかった。これは溶出試験期間中の試験条件が支配的要因となっていたと考えられる。さらに、St.1 (湖心) や St.2 (掛馬沖) では底質の表層と底層で異なる微生物構造を示したが、St.3 (土浦港沖) では表層と底層に差が見られず、底質が攪乱されている可能性が考えられた。

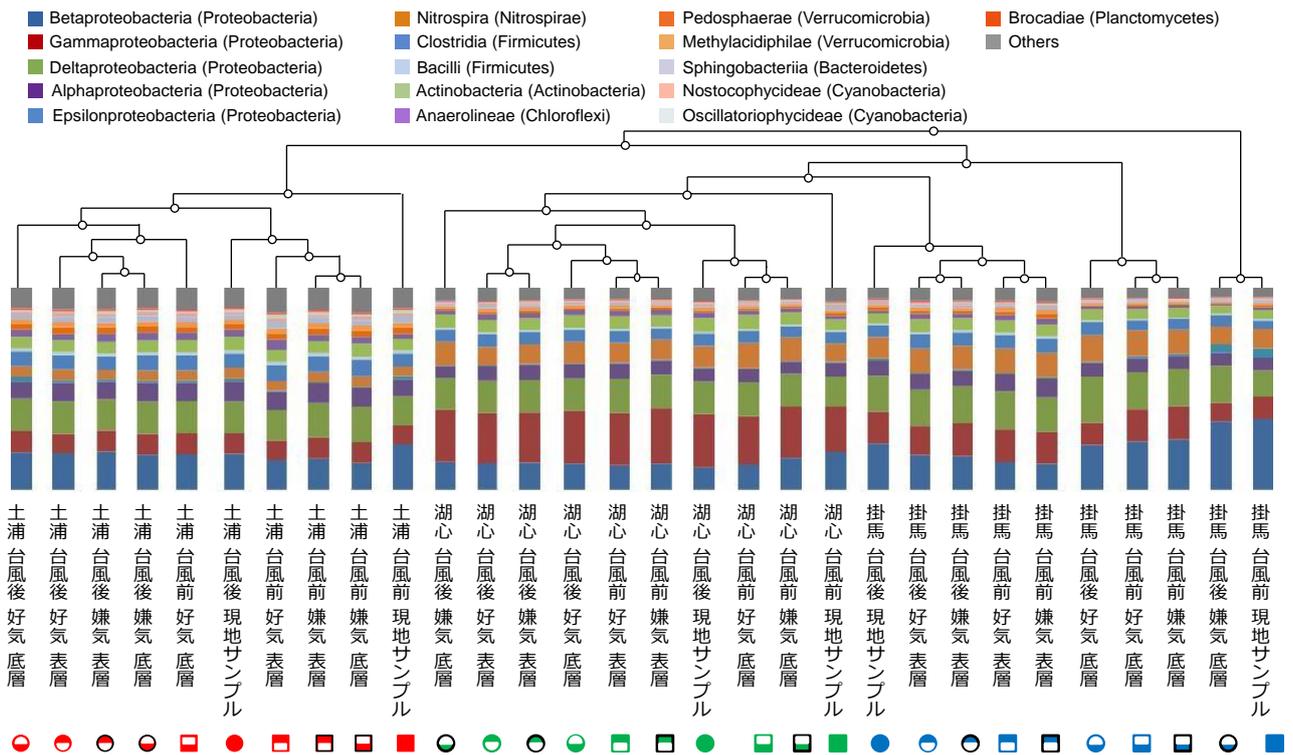


図5 次世代シーケンサーによる系統解析 (Class レベル) およびサンプル間のクラスター解析

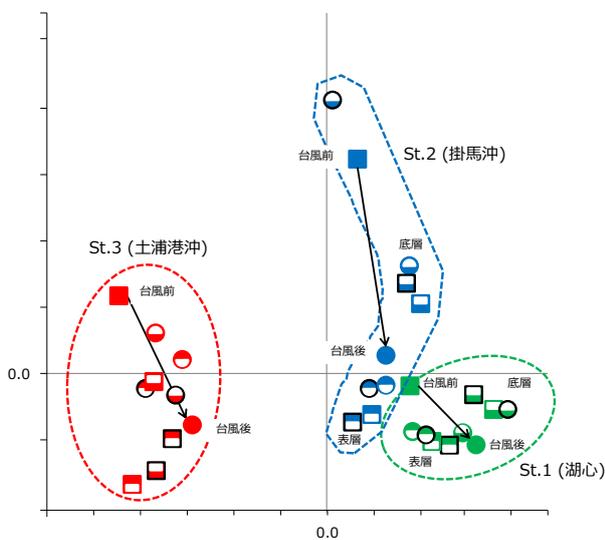


図6 サンプル間の属レベルの主座標分析

4. 結論

本研究では、霞ヶ浦において、台風による出水前後の底質を採取し、嫌気・好気条件下で20日間の溶出試験および次世代シーケンサーによる微生物叢解析を行った。現地調査の結果から、台風通過後の St.3 (土浦港沖) では、他の地点に比べ、pH および DO は低い傾向を示した。台風に伴い流入してきた有機成分は、採泥時には既に分

解し、溶出しやすい成分は既に湖水へ溶出していた可能性が考えられる。溶出試験の結果、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の溶出速度は、嫌気条件下で台風通過後に著しく増加しており、St.3 (土浦港沖) が最も大きかった。また、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の溶出速度は、台風通過後では、むしろ低下していた。また、微生物叢解析の結果、St.3 (土浦港沖) では、表層と底層に菌叢の差が見られず、底質が攪乱されている可能性が考えられた。以上のことから、St.3 の溶出試験 (嫌気条件下) で観察された現象 ($\text{NH}_4\text{-N}$ の増加、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の減少) は強風による底質の巻き上げの影響を強く受けていると考えられる。

参考文献

- 1) 梅田信、長峯知徳、長広遙、石川忠晴、宇多高明 (2001) 霞ヶ浦湖深部における底泥巻き上げ過程に関する研究、水工学論文集、45、1171-1176
- 2) 松原誠 (2004) 湖沼水質保全と下水道事業、水環境学会誌、27、514-517
- 3) 加藤亮、石島智恵、黒田久雄、中曽根英雄、桐博英 (2006) 畜産排泄物規制前後の栄養塩の流出特性、水環境学会誌、29、687-692
- 4) 細見正明 (1993) 底質からの窒素およびリンの溶出とその制御、水環境学会誌、16、91-95

- 5) Jordan, P. and Rippey, B. (2003) Lake sedimentary evidence of phosphorus, iron and manganese mobilization from intensively fertilized soils, *Water Research*, 37(6), 1426-1432
- 6) 福島武彦、川村修平、恩田裕一、今井章雄、松重一夫 (2005) 霞ヶ浦、諏訪湖における底質長期変化と栄養塩類収支、*水環境学会誌*、28、313-319
- 7) 環境省 水・大気環境局 (2014) 平成 25 年度公共用水域水質測定結果、<http://www.env.go.jp/water/suiiki/h25/01.pdf> (2015 年 3 月時点)
- 8) 柴山慶行、平山孝浩、南山瑞彦 (2012) 土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に関する研究、*土木研究所資料*、4241、87-94
- 9) 柴山慶行、平山孝浩、池田茂 (2013) 土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に関する研究、*土木研究所資料*、4275、65-68
- 10) 柴山慶行、對馬育夫、平山孝浩、岡本誠一郎 (2014) 土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に関する研究、*土木研究所資料*、4294、70-76
- 11) 茨城県霞ヶ浦環境科学センター (2014) 霞ヶ浦の水質状況、http://www.kasumigaura.pref.ibaraki.jp/04_kenkyu/kasumigaura/kasumigaura.html (2015 年 3 月時点)
- 12) 底質浄化協会 (2003) 底質の調査・試験マニュアル (改訂第三版)、技術資料 2003-3、土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に関する研究、*土木研究所資料*、4275、65-68
- 13) 環境省水・大気環境局 (2012) 底質調査方法、417
- 14) Klindworth A., Pruesse E., Schweer T., Peplles J., Quast C., Horn M., Glöckner F.O. (2013) Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies, *Nucleic Acids Research*, 41, 1-11
- 15) Edgar R. (2010) Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST, *Bioinformatics*, 26(19), 2460-2461
- 16) Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Peña A. G., Goodrich J. K., Gordon J. I., Huttley G. A., Kelley S. T., Knights D., Koenig J. E., Ley R. E., Lozupone C. A., McDonald D., Muegge B. D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J. R., Turnbaugh P. J., Walters W. A., Widmann J., Yatsunenko T., Zaneveld J., Knight R. (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data, *Nature Methods*, 7, 335-336
- 17) 中藪孝裕、阿部千雅、鈴木譲 (2009) 霞ヶ浦の底泥表層の巻き上げ時における栄養塩類と鉄・マンガンの溶出特性、*環境システム計測制御学会*、14、45-52

The Influence of Environmental and Land Use Change on Water Quality and Sediment in Closed Bodies of Water

Budget: Grants for operating expenses (General Account)

Research Period: FY2011-2015

Research Team: Water Environment Research Group (Water Quality)

Authors: OKAMOTO Seiichiro, KOMORI Koya, HIRAYAMA Takahiro, TSUSHIMA Ikuo, TAKEDA Fumihiko

Abstract:

The factors of eutrophication in a lake are dependent on external loads of nutrients carried from inflow rivers and internal loads of nutrients leached from bottom sediment. In this study, dissolution tests were conducted using the sediment obtained before and after a large-scale flood to understand the impact that floods have on sediment and water quality. In addition, microbial communities in the sediment were analyzed using a new generation sequencer to determine the behavior of in situ materials and the condition of the environment. The dissolution tests showed that the $\text{NH}_4\text{-N}$ dissolution rate under anaerobic condition had increased at the St. 3 sampling site near the mouth of the inflow river after the flood. In contrast, the $\text{PO}_4\text{-P}$ dissolution rate had decreased. Microbial community analysis results at the St. 3 sampling site showed no large difference between surface and deep sediment. This suggests that the sediment at St. 3 was disturbed by high wind.

Keywords: *Closed water body, Eutrophication, nutrients leachate from sediment, microbial community analysis*