

B-51 CH₄、N₂O のインベントリーの精緻化と開発中核技術の内外への普及

(3) バイオ・エコシステムを活用した生活系・事業場系排水の CH₄、N₂O 抑制対策中核技術の汎用化と普及に関する研究

②CH₄、N₂O 放出抑制のための土壌活用処理手法の運転操作・管理条件の確率化に関する研究

独立行政法人国立環境研究所

循環型社会形成推進・廃棄物研究センター バイオエコエンジニアリング研究室

稲森悠平、水落元之、岩見徳雄、板山朋聡

Preeti Dass (EFF)

平成 12 年～14 年度合計予算額 6,038 千円

(平成 14 年度予算額 2,056 千円)

[要旨]

土壌を媒体とし、アシ、ヨシ、マコモ等を活用する植栽浄化手法からは場の条件設定の適正さの有無によっては温室効果ガスである CH₄、N₂O の排出特性に差の生ずることが知られている。それ故、これらを活用した処理システムは開発途上国において多用されているものの、このような排水処理システムの整備に伴う温室効果ガス排出量の増加が懸念されている。一方、植物の茎を通して根圏部さらに土壌中へ供給される空気により微視的な好気環境が形成され、発生した CH₄ の酸化が促進されると考えられている。本研究では上記の点に注目して、水生植物植栽・土壌処理システムへの流入負荷の違いが CH₄、N₂O 排出量に与える影響および CH₄ 酸化に係る CH₄ 酸化細菌の土壌中での挙動についての解析評価を行った。

その結果、植栽の違いを比較検討する上で、植栽浄化手法で一般的に用いられるアシおよびマコモを選定したが、処理性能はほぼ同程度であった。しかしながら CH₄ 排出量は流入負荷に関係なくマコモの植栽系が高い傾向を示した。一方、N₂O 排出量は流入負荷が高い場合においてマコモ植栽系で増加する傾向が見られた。同様に CH₄ 生成菌数もマコモ植栽系がアシ植栽系に比べて大きくなった。ここでマコモ植栽系の場合、CH₄ 酸化細菌は土壌表層付近に多く存在するが、アシ植栽系の場合、マコモより根が深く発達するため、CH₄ 酸化細菌が土壌深部にも多く存在する事が明らかになった。これらがアシ植栽系とマコモ植栽系における CH₄ 排出量の違いの一因と考えられ、温室効果ガス抑制対策としてのアシ植栽の有用性が示された。

[キーワード]

湿地土壌活用植栽浄化システム、CH₄、N₂O、メタン資化性細菌、メタン生成細菌

1. はじめに

湿地土壌を活用した浄化システムは、従来から注目されている。これは、都市の環境にうまく順応してきた環境修復のためのナチュラル・プロセスである。湿地土壌活用植栽浄化システムは、天然湿地の機能を促進するように設計された人工システムである。本システムは、有機物、浮遊物質、

金属、栄養分などの非点源（鉱山、農業、都市流出水）に加えて、点源（都市廃水や何らかの産業排水）からの大量の汚染物質や病原体を、効果的に除去、あるいは変換することができる。これらのナチュラル・プロセスは、地域の水性環境の同化能力を用いて、廃水から汚染物質や病原体を取り除く上でも効果的である。

湿地土壌活用植栽浄化システムでは、排水が一定の割合で湿地に流れるままになっている。排水が湿地に放出され、表面流動によって均等に配水されると、栄養分や細菌を除去することで、微生物の活動が湿地浄化能を高める。湿地の植生は、元来湿った環境に適した水生植物からなる植生である。植生の目的は、栄養分摂取ではなく、むしろ固形物の沈降を増大させ、微生物の成長を促進することにある（Pullin と Hammer, 1989 年）。

水生植物の植生の特徴は、空気を根まで導く植物の能力であり、それゆえ植物は飽和土でも生き延びることができる。植物は、生物学的なポンプのような働きをして、太陽光を化学的エネルギーに変え、酸素を葉から根に運ぶ。植物は、細菌、菌類、藻類、原生動物などの微生物が、自身の成長サイクルに使った栄養分を変質させたり、除去したりするときに取り付く場所を提供する。これらの微生物の中で微小動物は、病原体を除去することのできる、捕食者としての機能も果たしている。空気が根まで運ばれるときに、根圏周域においては、好気性微生物の分解を可能にする酸素を豊富に含む圏を、根の周りに創出する。汚染物質を分解する微生物は、根の表面を取り巻く酸化圏にコロニーを創り、硝酸塩を無害な窒素ガスに変える。土壌、礫、泥炭は、植物の発根媒体を提供する下地として、湿地で用いられてきた。この下地は、微生物の吸着のための場所や、環境に有害である可能性のある錯イオンへの媒介物のための場所も、提供する。

汚染された水の水質改善には、多くの除去プロセスが関わるのが可能であるが、造成湿地処理システムの持続可能な運用は、最終的には、有機物負荷と窒素負荷のガス状最終生成物への高率変換に依存する。これらのガス状生成物のうち、 N_2O や CH_4 には、その地球温暖化の高い可能性ゆえに、特別な注意が必要とされた。 CH_4 と N_2O の大気中の濃度は、それぞれ CO_2 の $1/200$ 、 $1/1,000$ である。しかしながら、IPCC（Inter-Governmental Panel on Climate Change 気候変動に関する政府間パネル）の報告によれば、 CH_4 及び N_2O の温室効果は、実際には CO_2 の 20～30 倍、200～300 倍である。これらの理由から、日本の京都での COP3（第 3 回気候変動枠組み条約締約国会議、一般には温暖化防止会議と呼ばれる、1997 年 12 月）で、 CH_4 と N_2O は、 CO_2 を含む他の 4 種の温室効果ガスと共に抑制されることが決定された。

温室効果ガス排出の寄与に関する限り、排水処理過程は、合計 CH_4 排出の 70%、合計 N_2O 排出の 19% の割合を占めることが推計されたこれまでに、 N_2O と CH_4 の発生源と吸収源を調査（Inamori ら、1992 年）するために、多くの研究が行われた（Williams ら、1992 年；Wu ら、1995 年）。 CH_4 と N_2O の両方の排出が、家庭排水あるいは産業排水が流れ込む沼地、沼沢（地）などで観測されている。そのような場所では、 CH_4 を酸化して CO_2 にガス質変換する、多くの種類の CH_4 生成菌や CH_4 酸化菌が存在する。ここでは、 CH_4 酸化菌による排出 CH_4 の CO_2 への変換は、 CH_4 よりも地球温暖化に対する寄与を低くするという点で、非常に重要である。沼沢（地）の CH_4 酸化菌の存在は、その植物の種類に左右される。また、より多くの菌が生息すればするほど、場の設定条件によっては CH_4 の排出は少なくなる可能性がある。そこで、「生態工学技術」あるいは「生態工学システム」を用いた CH_4 や N_2O 排出抑制研究や、このような汚染された地域の水環境を改善することが必要である。この生態工学システムでは、汚染された水の浄化は、 CH_4 酸化菌、

硝化細菌、原生動物など、そこに生息する効果的な水生植物や微生物の機能によって行われることから、このような植物の生長特性、植栽・土壌の根圏特性、及び微生物間相互作用の研究は極めて重要であるといえる。

上記の点を鑑み、本研究では、2つの面に注目して検討を行った。1つは、ハイブリッド処理植栽・土壌の栄養塩除去メカニズムと、その生態工学法としての水生植物浄化の研究である。もう1つは、 CH_4 酸化菌の導入に基づいた CH_4 、 N_2O 生成抑制メカニズムと、嫌気性-好気性条件最適化についての研究である。

2. 実験方法

2. 1 処理システムの設計と実験条件

実験は、各ユニットを、同型サブユニットを持つ独立した6つの湿地ユニットに分割して行った。各ユニットは、長さ880mm、直径560mmである。すべてのユニットには122mmの砂粒層、次に60mmの砂層、その次に430mmの細砂層を入れた。砂の上の水体の深さは、図1に示したように60mmである。

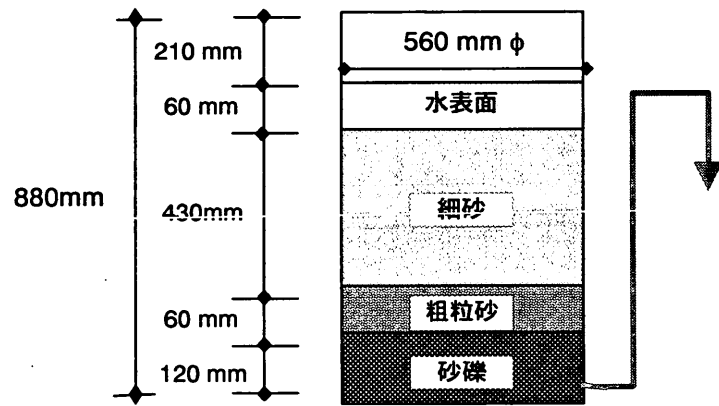


図 1 湿地土壌活用植栽浄化システムユニットの縦断面図

流入原水としてはデキストリン、バクトペプトン、酵母エキス、肉エキス、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、尿素 ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$)、リン酸第1カリ (KH_2PO_4)、塩化カリウム (KCl) からなる人工排水を、この実験に用いた。流入水の水質は、 $\text{BOD } 200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、 $\text{COD } 66 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、 $\text{TOC } 105 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、 $\text{T-N } 50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、 $\text{T-P } 6.4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ である。水生植物であるマコモやヨシは、近くの天然湿地から、それぞれのユニットに移植した(図2)。両植物とも、3つの異なったBOD負荷 ($200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、 $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) の排水で処理した。各容器の水力滞留時間は、7日間であった。流入水の流速は、 $20 \text{ L} / 7 \text{ 日}$ であった。

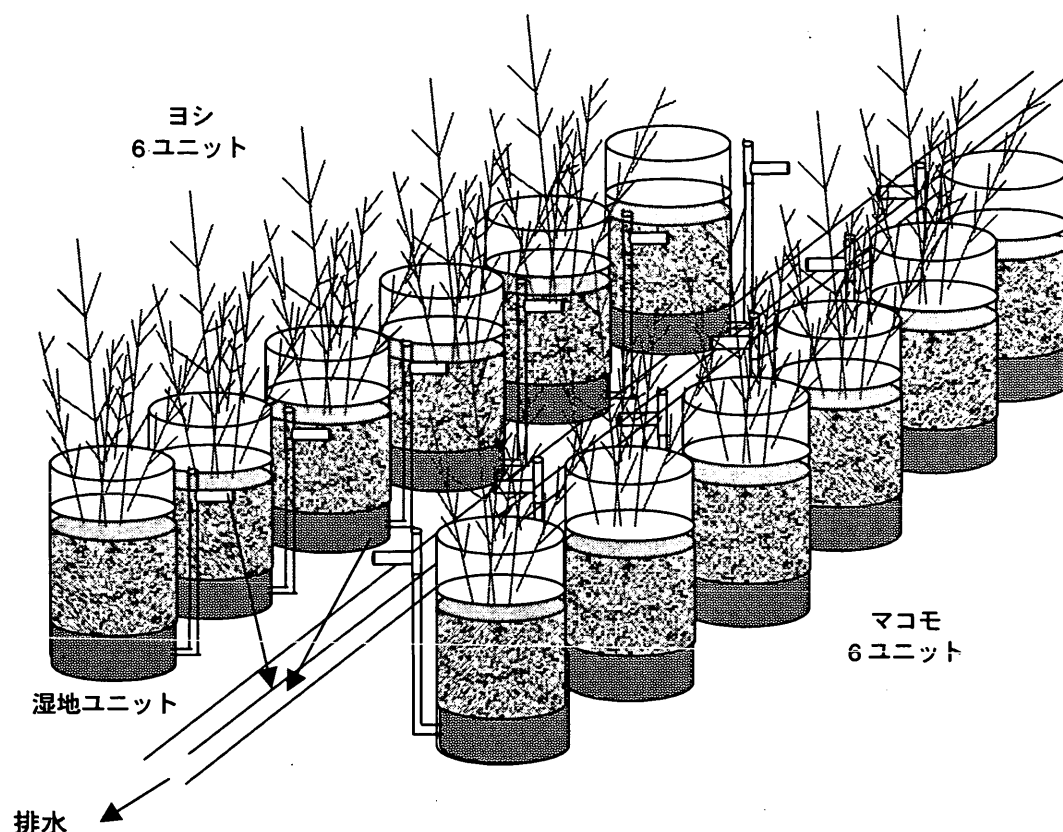


図2 水生植物による生態工学浄化実験設備の概要

2. 2 分析

流入水と流出水の水質を測定した。パラメーターは、全窒素 (T-N)、全リン (T-P)、アンモニウム性窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$)、硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$)、化学的酸素要求量 (COD)、生物学的酸素要求量 (BOD)、全有機体炭素量 (TOC) である。それぞれの分析は下水試験法および Standard Method に準じて行った。

処理システムから発生するガス収集については、クローズドチャンバー法を用いて行った。チャンバー最上部の空気吹き出し口から、シリンジで発生ガスを回収し、それをサンプルとして CH_4 と N_2O 濃度を測定した。 CH_4 は、FID-GC で、 N_2O は、ECD-GC でそれぞれぶんせきした。また、湿地ユニットにおける CH_4 生成微生物と CH_4 資化性菌を研究するために、蛍光インサイチュー・ハイブリダイゼーション (FISH) を用いた。

3. 結果及び考察

3. 1 水環境汚濁物質除去能力

湿地処理ユニット稼働中の BOD、COD、T-N、T-P、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 除去実績を、年間を通じて調査した。図3は、様々な汚濁物質の除去率の概要を示している。

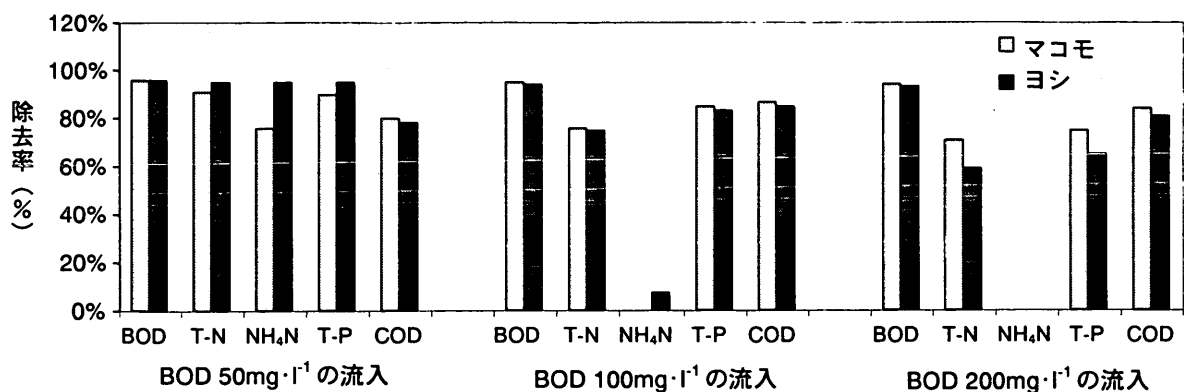


図3 異なる BOD 負荷の排水を処理する湿地ユニットの除去効率

本図より、BOD除去率が95%、COD除去率がほぼ80%であったことから、3つの全ての湿地ユニットにおいて、両植物とも比較的良好な成績を示した。BOD除去の増加は、有機物の分解に利用可能な酸素量の増加と係わっているものと思われる。更なる湿地ユニットへの貯蔵による付加的滞留や、沈降と濾過機能をサポートする植物の存在のために、湿地土壌活用植栽浄化システムの研究は、概してBODの著しい減少が報告されてきた。これらの減少は、湿地の生態系内の様々な分解過程のせいでもある。湿地ユニットによって達成された窒素とリンの除去効率は、流入負荷条件により変化した。低い流入負荷のユニットでは、両植物とも95%の除去率を示したが、流入汚濁物質の負荷が増えると、除去率も減少した。無機化合物に変換されるNH₄-Nが、硝化されずに湿地ユニットから放出されるために、湿地の窒素浄化成績は、効果的な浄化機能は保持されたものの冬季に低下する傾向にあった。この現象は、「冬季には、硝化は、窒素除去の律速反応である」ことを示唆している。経月データは、リンの除去率が時間が経つと減少し、時には湿地がリンを放出することを示している。植物による摂取、吸収、析出、生物学的膜への取り込みによって、リンが湿地ユニット内で無機化および固定化される間に、リン除去は、負荷率に非常に左右されやすく、リンを吸収する基質の能力は有限であると考えられる。結果から、両植物による汚濁物質の除去率は、ほぼ同レベルであり、いずれの植物共に、200mg·l⁻¹くらいの流入BOD濃度には影響されないことが分かった。

3. 2 温室効果ガス排出の時間的变化

N₂O 排出については、全ての観測期間中に4つのピークが観測された(図4)。1年目の最初のピークは8月、2番目は10月で、その後急激な減少が始まり、気温が上がり始め、微生物の活動が再開される4月まで続いた。2年目の9月には、4番目のピークが観測された。より高いBOD負荷の湿地、特にマコモのユニットでは、より多くのN₂Oの排出が、観測された。N₂Oに関しては、硝化の好氣的過程と脱窒の嫌氣的過程の両過程とも、その生成に寄与するといわれている(Knowles, 1982年; Aulakh, 1984年; Zumft, 1997年)。なお、400mv以下の土壌の酸化条件を示す酸化還元電位での好氣的条件、あるいは100~200mvでの還元的条件は、結果的に多くのN₂O排出をもたらす可能性がある。前者の過程は、好氣的過程に係わると考えられ、後者の過程は、嫌氣的過程に係わると考えられた。結果的に、N₂O排出がCH₄排出と同じ傾向を示したときには、嫌氣的過程に係わり、反対の傾向が検出された場合には、好氣的過程を考慮しなければならない。

図4に示すように、 CH_4 フラックスの計測は、調査研究期間中において相当な変動を示し、4つのピークが観測された。最初のピークは、夏季の7月中に観測された。2番目のピークは、植物が育って、根圏の酸素の大半が、根の呼吸に消費される10月に観測された。植物が枯れる冬は、 CH_4 の排出は非常に低下した。植物が生長を始める3月には、バイオマスが増加するにつれて、排出も増加した。4番目のピークは、植物が成熟する9月に、再度観測された。 CH_4 の夏のピークは、高温と、その季節の有機物除去による高い酸素消費量に、関連があると考えられた。気温は、純 CH_4 フラックスを変えるパラメーターの範囲に影響を与える可能性がある。例えば、純 CH_4 排出量は、 CH_4 酸化微生物集団や CH_4 生成微生物集団の温度応答の違い、地下水面の下降/上昇によるヒステリシス効果、維管束植物の成長段階による影響を受けている可能性がある。春のピークは、低い気温によって微生物の活動が減少する冬季月間における、化学変化を起こしやすい有機物の蓄積によって引き起こされたものといえる。気温が、微生物活動の増加レベルに上昇すると、 CH_4 生成微生物の基質分解と基質供給が増加する。高BOD負荷の湿地ユニットでは、高い排出が観測された。 CH_4 排出は、土壌の酸化減少状況に大きく依存していると考えられる。高BODの湿地ユニットでは、微生物による有機物の分解が、結果的に CH_4 の生成や排出をもたらす。更に、 CH_4 フラックスは、ヨシのユニットよりマコモのユニットからの方が常に高かった。これらの結果は、マコモに比べて複雑な根圏構造を持つヨシは、 CH_4 酸化細菌のバイオマス量および活性を高め CH_4 生成微生物の活動を弱める傾向があることを意味している。

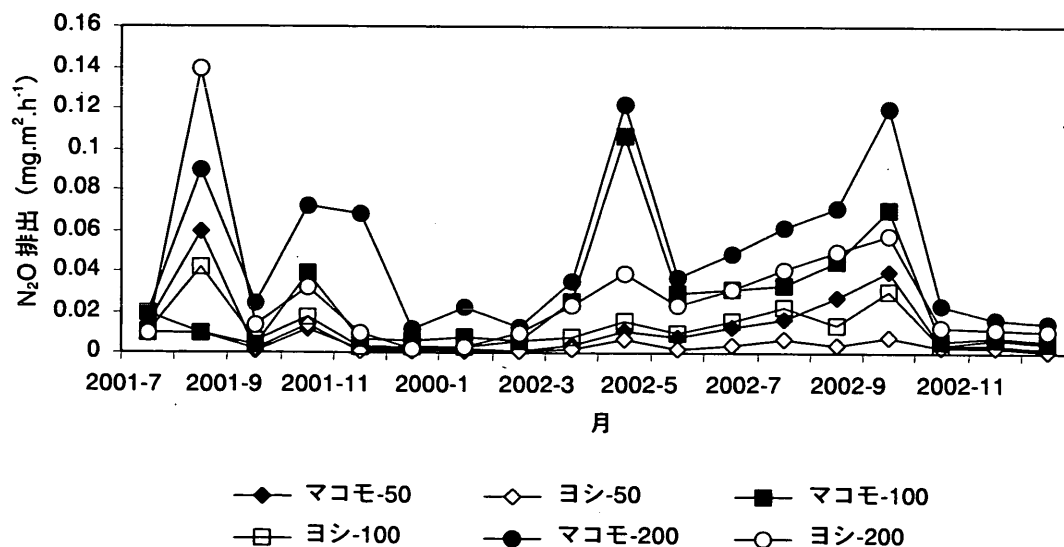


図4 N_2O 排出の季節変化

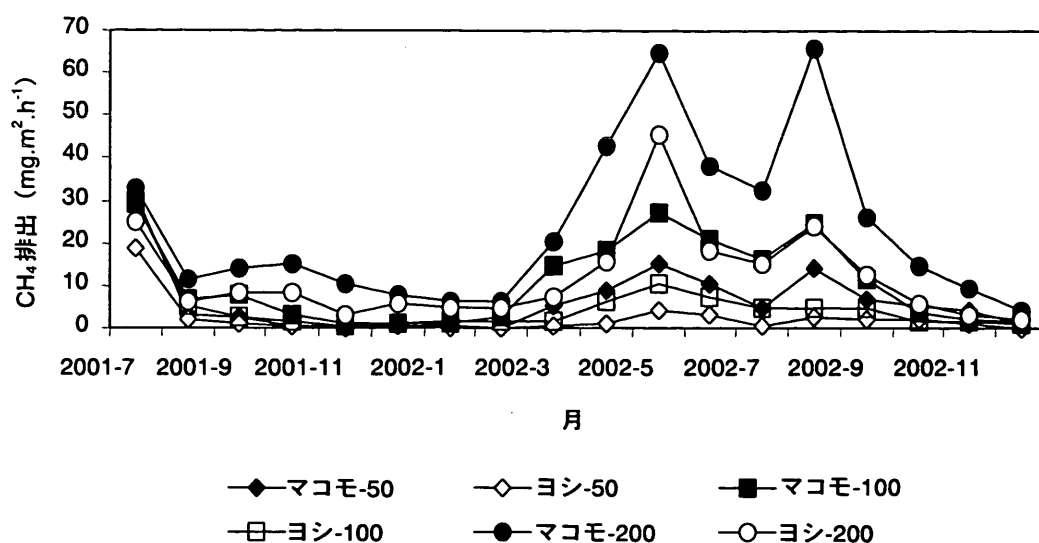


図5 CH₄排出の季節変化

3. 3 CH₄資化性菌とCH₄生成微生物の分布

湿地ユニットにおいて水生植物は、CH₄のターンオーバーに強い影響を与える。大型水生植物では、嫌気性環境で生存するための換気システムが発達している。湿地ユニットからのCH₄排出は、CH₄生成微生物によるCH₄生成と、CH₄資化性菌によるCO₂への酸化の両者の効果に依存する。CH₄は、CH₄濃度傾斜と酸素がオーバーラップする、無酸素部位と有酸素部位間の界面で酸化される可能性があるが、そのような界面は、浸水土壌の表面と水生植物の根圏に見られる。CH₄酸化細菌による酸化は、しばしばCH₄生成部位と関連していることから、地球規模のCH₄排出に対する抑制に対する寄与がなされるようになるのであれば、これら2つの活動の関係を理解することは、極めて重要なことである。それ故、異なったBOD負荷の排水を処理する水生植物の根圏における、CH₄酸化菌とCH₄生成菌の役割を調査するために、その分布と列挙に着目して検討した。

3. 4 CH₄資化性菌のバイオマスの質的・量的特性

CH₄資化性菌は、単一炭素やエネルギー源としてCH₄を利用する。CH₄資化性菌は、2つの全く異なる生理学的グループに分けられる。タイプIのCH₄資化性菌は、リブローズ・モノリン酸塩経路を利用して、CH₄の酸化により生成されるホルムアルデヒドを吸収する。また、主として16炭素脂肪酸を含有し、細胞質内の半透膜の束を有する。タイプIIのCH₄資化性菌は、ホルムアルデヒド吸収のためのセリン経路を利用する。また、細胞の周辺部に配置された細胞質内半透膜を有し、主として18炭素脂肪酸を含有する。

タイプIとタイプIIのCH₄資化性菌のためのプローブMG-64とMA-621を、それぞれ全細胞のハイブリッド化に用いた。プローブの順位とハイブリッド化条件は、Bourneの手法に準じて行った(D.G Bourne, 2000年)。

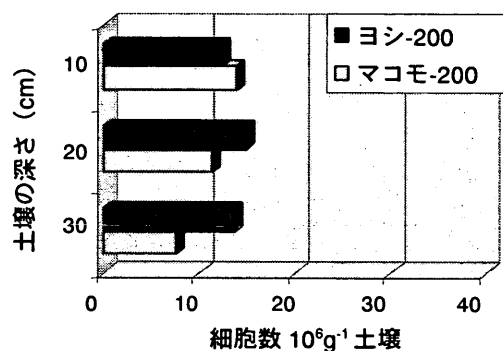
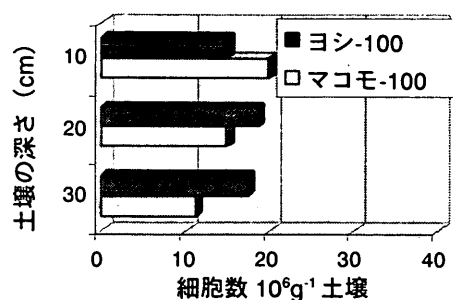
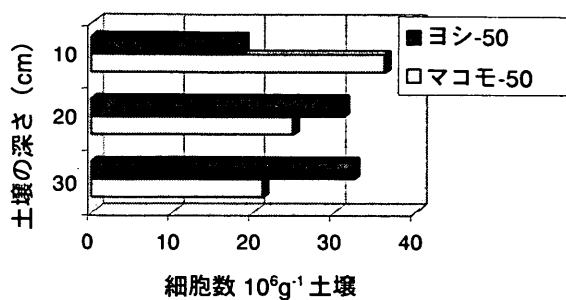


図6 湿地ユニットの異なる深さでの土壌標本におけるタイプⅠの
CH₄ 資化性菌の細胞数の比較解析

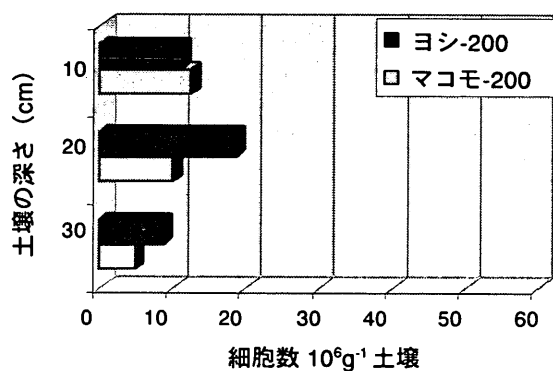
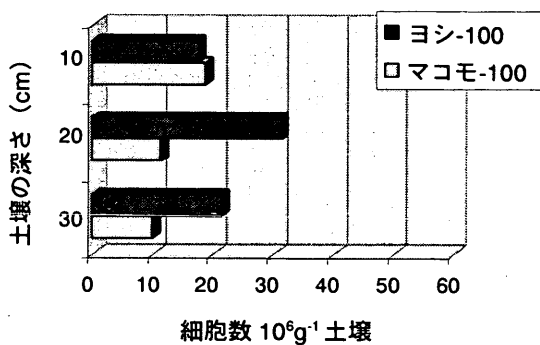
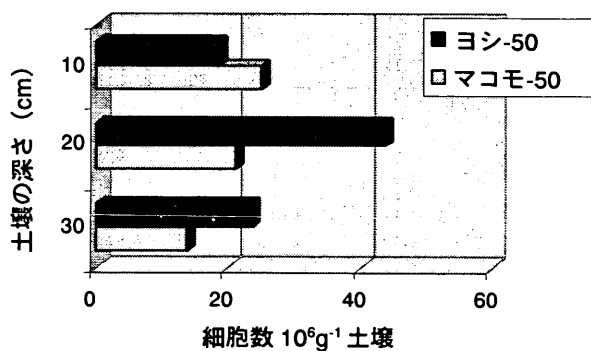


図7 湿地ユニットの異なる深さでの土壌標本におけるタイプⅡの
CH₄ 資化性菌の細胞数の比較解析

CH₄ フラックスは、ヨシの植栽ユニットからよりもマコモの植栽ユニットからの方が、常に多かった。湿地ユニットからの CH₄ の排出は、CH₄ 生成微生物による CH₄ 生成と CH₄ 資化性菌による CO₂ への酸化の両者の効果である。異なった深さのヨシとマコモ湿地ユニットにおける CH₄ 資化性菌の分布を図 6、図 7 に示した。マコモ湿地ユニットの CH₄ 生成菌の数は 10cm の深さでは、より高かったが、CH₄ 資化性菌の数は、深さが増すにつれ減少した。これとは対照的に、ヨシの湿地ユニットの深さ 10cm の土壌で、より少ない数の CH₄ 資化性菌が検出されたが、20cm と 30cm の深さでは、より高い数が確認された。

この違いは、根と茎の構造の違いによるもので、最も顕著なのは、通気組織、植物の分類群で異なる根圏菌の酸素利用可能性の違いによるものと思われる。マコモの根は浅く、CH₄ 資化性菌の活動は、主に土壌の上部に限定されるが、ヨシの根はより深く、もっと深いところまでの CH₄ を酸化することができるといえる。この構造は、湿地からの CH₄ の排出の減少に優れた効果を発揮しているといえる。Amaral らの研究で、堆積物カラムの頂上近辺では、CH₄ 濃度は低く、酸素濃度が高いが、カラム底部では、溶解酸素濃度は非常に低い。また、CH₄ 濃度は非常に高いことが確認されている。タイプ I の CH₄ 資化性菌は、CH₄ が低混合比 (1,000ppmv) で供給される通気水田土壌では、急速に増殖することが可能で、CH₄ 酸化が優勢であるのに対して、タイプ II の CH₄ 資化性菌は、高 CH₄ 混合比 (10,000ppmv) でのみ増殖することが、最近分かった。メタン CH₄ と酸素の供給は、CH₄ 資化性菌個体群にとって必要不可欠である。それ故、マコモとヨシの CH₄ 排出の違いは、湿地ユニットにおける CH₄ 資化性菌の数と分布の違いに関連しているといえる。更に、高 BOD 負荷の湿地ユニットでは、より多くの排出が観測された。これは、図 8 に示したように、CH₄ 資化性菌の数は、BOD 負荷が増すと少なくなるという、CH₄ 酸化菌のバイオマスにも関連している可能性がある。

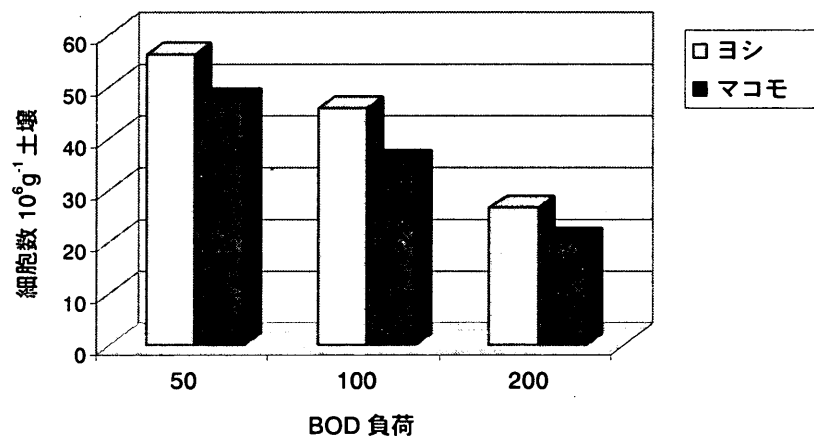


図 8 異なる BOD 負荷湿地ユニットの土壌標本におけるメタン資化性菌数の比較解析

3. 5 CH₄ 生成菌のバイオマスの質的・量的特性

水環境では排水によって汚染された有機物が堆積物に蓄積する。CH₄ の 70% が酢酸塩から形成され、残りの 30% は二酸化炭素と水素から形成される (Gaudy and Gaudy, 1990 年)。CH₄ は、もっぱら嫌気性環境下での有機物鉱化作用の最終段階で、CH₄ 生成菌によって生成される。嫌気的システムにおける有機物の CH₄ への完全な変換には、全体機能に対する調整活動には欠かせない、少なくとも 3 つの機能的に異なった栄養群の菌を必要とする (Chartrain と Zeikus, 1986 年)。

これらの菌は、加水分解（発酵）菌、栄養共生酢酸生成菌、 CH_4 生成菌である。したがって、堆積物からの CH_4 排出と、堆積物における CH_4 生成菌の個体群動態の関係を研究することが重要である。本研究では、4つのオリゴヌクレオチド・プローブ MG1200、MB1174、MS1414、Mx825 を用いた。それらのプローブは、 CH_4 生成菌の幾つかの系統群に対する目、科、属の特定プローブである。プローブの順位とハイブリッド化条件は、L. Raskin の手法に準じて行った（1994 年）。

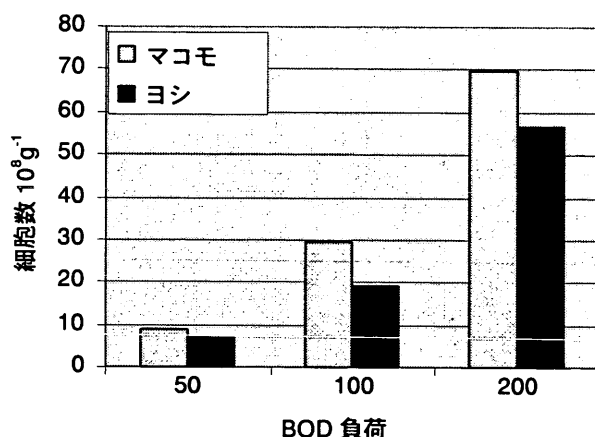


図 9 異なる BOD 負荷の排水を処理する湿地ユニットの土壌における CH_4 生成菌の細胞数の比較解析

ヨシやマコモが生息する湿地ユニットにおける CH_4 生成菌のバイオマスは、図9に示した。3つのBOD負荷の全ての湿地ユニットにおける CH_4 生成菌の数は、ヨシのユニットよりもマコモのユニットの方が多かった。また、BOD負荷が増すと、 CH_4 生成菌の数も増加する。ヨシとマコモのユニットにおける CH_4 生成菌のバイオマスの違いは、ヨシとマコモ間に特有の CH_4 排出によるものであろう。また、ヨシが優勢なユニットよりも、マコモが優勢なユニットにおける CH_4 生成菌の数がより多いのは、 CH_4 排出に関する特定の維管束植物の促進効果を反映しているのであろう。第一に、大型水生植物は、根の欠損を避けるために通気組織を発達させる。更に、通気細胞は、嫌気層から大気への CH_4 移送にとって重要な経路を形成する (Schutzら、1991年; TronとChapin、1993年; Shannonら、1996年)。一方、こうした根から根圏へと放出された O_2 は、嫌気層における CH_4 酸化を増大させる可能性がある (Conrad 1989年、Chanton and Dacey 1991年)。この O_2 は、植物の根、あるいは嫌気性微生物の呼吸によって、速やかに消費されるのだろう。第二に、微生物は、嫌氣的分解において容易に分解処理可能な基質、例えば、根本の敷き藁や滲出物などが提供されることで、 CH_4 排出が強化されることになると考えられる。このような点から本研究で得られた成果は、 CH_4 生成菌の分布が、植物の根のバイオマス分布にも関係していることを示唆している。

4. 結論

生態工学技法としての水生植物の植栽・土壌浄化法における異なる流入汚濁物質負荷の排水処理時の、ヨシとマコモの浄化可能性を解析評価するために、2年間の長期的な研究を行った。その結果、ヨシとマコモ、両植物による汚染物質の処理効率は、ほぼ同じレベルであったがこのことは、「排水における BOD 濃度の違いが、除去効率に影響しない」ことを示唆している。また、マコモの植栽ユニットにおける CH_4 生成菌のバイオマスの方が、ヨシの植栽ユニットよりも高かったのは、マコモの湿地ユニットからの CH_4 排出が多かったからであるといえる。更に、2つの植物の植栽・土壌浄化法における CH_4 酸化菌の活動と分布能力には、顕著な違いが認められた。その理由としてはヨシの根圏構造はマコモに比べて複雑であり、このことが CH_4 酸化細菌の定着・生育・活性能を高め、湿地からの CH_4 排出の減少に有利な状況を形成したものといえる。

5. 参考文献

- (1) D. G. Bourne, A. N. Holmes, N. Iversen, J. Colin Murell. Fluorescent oligonucleotide rDNA probes for specific detection of methane oxidizing bacteria. FEMS Microbiology Ecology 31 (2000) 29-38.
- (2) Raskin, L., J. M. Stromley, B. E. Rittmann, and D. A. Stahl. 1994. Group-specific 16S rRNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens. Applied. Environ. Microbio. 60:1232-1240.
- (3) Amaral, J.A., C. Archambault, S. R. Richard and R. Knowles. 1995. Growth of methanotrophs in oxygen and methane counter gradients. FEMS Microbiol. Ecol. 18:289-298.
- (4) Chanton JP, Dacey JWH (1991). Effects of vegetation on methane flux, reservoir and carbon isotopic composition. In: Sharkey TD, Holland EA, Mooney HA (eds) Trace gas emissions by plants. Academic Press, San Diego, pp 1-24
- (5) Conrad R (1989). Control of methane production in terrestrial ecosystem In : Andreae MO, Schimel DS (eds) Exchange of trace gases between terrestrial ecosystem and the atmosphere. Wiley, Chichester, pp 39-58.
- (6) Gaudy A. F. and Gaudy E. T. (1980). Microbiology for Environmental Scientist and Engineers. McGraw-Hill, New York.
- (7) Allen, L.H. (1997). Mechanics and rate of O_2 transfer to and through submerged rhizome and roots via aerenchyma. Soil and crop Sci. Soc. Florida Proc., 56, 74.
- (8) Annstrong, J. and Armstrong, W. (1990). Pathways and mechanisms of oxygen transport in *Phragmites australis*. In: constructed wetlands in water pollution control, Cooper, P.F. and Findlater, B.C., pp.529-534. Pergamon press, Oxford, U.K.
- (9) Aulakh, M.S., Rennie D.A. and Paul E.A. (1984). Acetylene and N₂O effects upon N_2O emissions from NH_4^+ and NO_3^- treated soils under aerobic and anaerobic conditions. Soil Biol. Biochem., 16, 351-356.

- (10) Brix, H. (1993) Macrophyte mediated oxygen transfer in wetlands; transport mechanism and rates. In: Constructed wetlands for Water Quality Improvement, Moshiri, G.A. (ed), pp. 391-398. Lewis publishers, Boca Raton, FL, U.S.A.
- (11) Brix, H. (1997). Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? Wat. Sci. Tech., 35 (5), 11-17.
- (12) Devi, I., and Delaune, R.D. (1996). Ligh hydrocarbon production in Freswater marsh soil as influenced by soil redox conditions. Wat. Air. Soil. Pollut., 88, 39-46.
- (13) Dunbabin, J.S., Pokorny, J. and Bowmer, K. H. (1988). Rhizosphere oxygenation by *Typha Domingensis* per. In miniature artificial wetland filters used for metal removal from wastewater. Aquat.Bot. 29, 303-317.
- (14) Haberl, R., Perfler, R., Laber, J. and Cooper, P. (1997). Wetland systems for water pollution control. Wat. Sci.Tech.,35 (5).
- (15) Hamiton, H.,Nix, P. G. and Sobolewski, A. (1993). An overview of constructed wetlands as alternative to conventional waste treatment systems. Water Pollut.Res.J.Canada, 28 529-548.
- (16) Hammer, D. A. (1989). Constructed wetlands for wastewater treatment. Municipal, Industrial, and Agricultural. Lewis Publishers, Chelsea, MI, USA.
- (17) Jespersen, D. N., Sorell, B. K. and Brix, H. (1998). Growth and root oxygen release by *Typha latifolia* and its effects on sediment methanogenesis. Aquatic Botany, 61 165-180.
- (18) Kadlec, R. and Brix, H. (1995). Wetland systems for water pollution control. Wat.Sci.Tech.,32 (3).
- (19) Kadlec, R. and Knight, R. L. (1995). Treatment wetlands. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- (20) Knowels, R. (1992). Denitrification, Microbiol. Rev., 46(1), 43-70.
- (21) Mitsch, W.J. and Gosselink, J.G. (1993). Wetlands, Second Edition. Van Nostrand-Reinhold, New York.
- (22) Moore, T. R. and Dalva (1993). The influence of temperature and water table position on CO₂ and CH₄ emission from laboratory columns of peatland soils. Journal of soil science 44, 651-664.
- (23) Patrick H. M., Ronald D. D. and William H.P. (1993). Methane and nitrous oxide emissions from laboratory measurement of rice soil suspensio; effect of soil oxidation-reduction status. Chemosphere, 26(1-4), 251-260.
- (24) Sather, J.H. and Smith,R. D. (1984). An overview of major wetland functions and values. FWS/OBS84/18. Western energy and land use team,U.S. fish and wildlife service, Washington, D.C., 68 pp.
- (25) Steinberg, S. L. and Coonrod, H.S. 1994). Oxidation of the root zone by aquatic plants growing in gravel-nutrient solution. J. Environ. Qual., 23, 907-913.
- (26) Vrhovsek, D., Kukanja, V. and Bulc, T. (1996). Constructed wetland for wastewater treatment. Water Res., 30, 2287-2292.

6. 国際共同研究等の状況

インドヴィクラム大学と生態工学的排水処理と GHG 排出に関する共同研究（研究者レベル）

7. 研究成果の発表状況

(1)誌上発表（学術誌・書籍） なし

(2)口頭発表

- 1)Dass, Inamori and Mizuochi : Study on emission of methane gas from aquatic and terrestrial ecosystem., 35th conference of Japanese Society on Water Environment, 2001, 3,Gifu, Japan.
- 2)Dass, Inamori and Mizuochi : Role of aquatic macrophyte in pollutant removal and green house gas control during wastewater treatment, 38th conference of Japanese Society of Water Treatment Biology, 2001, 11, Kobe, Japan.
- 3)Dass, Inamori and Mizuochi : Control of GHG and N,P from the wastewater treatment process using soil and aquatic plant, 9th International Conference on the Conservation and Management of Lakes, 2001,11, Ootsu, Japan.
- 4)Dass, Inamori and Mizuochi : Greenhouse gas fluxes and nutrient removal from constructed wetland: The importance of emergent macrophytes., 39th conference of Japanese Society of Water Treatment Biology, 20012002. 11, Saitama, Japan
- 5)Dass, Inamori and Mizuochi : Effect of plant type and input concentration on greenhouse gas emission and pollutant removal from constructed wetland., 36th conference of Japanese Society on Water Environment, 2002, 3,Kumamoto, Japan.

(3) 出願特許 なし

(4) 受賞等 なし

(5)一般への公表・報道等

8. 成果の政策的な寄与・貢献について

本手法は開発途上国で需要が多い手法なので、JICAの集団研修等を通して成果の普及に努めている。