

令和元年6月7日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07642

研究課題名(和文) 動物プランクトンおよび水生生物を利用した水田からのリン回収

研究課題名(英文) Phosphorus recovery from paddy fields using zooplankton and aquatic organisms

研究代表者

花山 奨 (Hanayama, Susumu)

山形大学・農学部・准教授

研究者番号：20282246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の成果は以下の3点である。1)初期の土壌含水量によって、土壌から田面水へのリン溶出量が異なり、また田面水中の植物プランクトンの増殖に違いが生じた。2)田面水中の水流が、大気・田面水間のガス交換を促進し、藻類の増殖に正の影響をおよぼした。3)巻貝の濾過摂食による緑藻類からの無機態リンの回収率は、約0.2と低かった。また、巻貝による土壌表面の付着藻類の摂食は無機態リンの回収を促進し、リン回収量は巻貝の種類によって違いが生じた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水田に存在する生物を利用することで、水田土壌から田面水へのリン溶出量は増加することが示された。本研究成果は、低コストで水田からのリンを回収する技術の開発に寄与するものと思われる。水田は人工の湿地とみなすことができる。湿地には多くの環境保全機能があり注目されている。本研究で得られた知見は、リンの回収のみならず、藻類による炭素固定など、水田の環境保全機能の強化にも応用可能であり、水田の多面的な利用につながるものと期待される。

研究成果の概要(英文)： This study shows the following three results.(1) The initial soil moisture content affects the amount of phosphorus released from soil to flooded water and the growth of phytoplankton in flooded water.

(2) The gas exchange between the air and the flooded water promoted by the water flow in the flooded water has a positive effect on the growth of algae.(3) Regeneration rate of inorganic phosphorus from green algae by filtration of snails was low, and the rate was about 0.2. Furthermore, the freshwater snail feeding behavior of algae on the soil surface promoted the regeneration of inorganic phosphorus, and the amount of phosphorus regeneration by the freshwater snail feeding behavior varied depending on the type of freshwater snail.

研究分野：農地環境学

キーワード：水田 リン 藻類 水生生物

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

現在の経済条件で採掘可能な世界のリン鉱石は、一部の国々に偏在している。そして、リン資源を保持する一部の国々は、リン鉱石の輸出規制をはじめている。それゆえ、リン鉱石を100%輸入に依存しているわが国にとって、リン資源を有効に利用する技術を開発することは、重要な課題である。

農水省（2009）の報告によると、国内の5割以上の水田土壌において、リン施肥が制限されるほど、リンが蓄積している状態である。このような背景のもと筆者は、水田に投入されたリンを回収する方法の開発に関する基礎的研究を進めてきた。これまでの研究で、堆肥を連用した水田表土の風乾土壌において、田面水のpH上昇によって土壌から田面水へのリン溶出が確認された（花山・安中、2014）。風乾土の場合、風乾による易分解性有機物の増加にともない、土壌中の微生物活動による窒素の無機化およびリンの可溶化が促進される。それらを栄養源として藻類が繁殖し、田面水のpHが上昇し、リンが溶出したと考えられる。一方、例として東北地方の日本海側において、稲収穫後から翌年の田植えまでの間、土壌は十分に乾燥しない。それゆえ、高含水比の水田土壌においても、田面水のpH上昇によって土壌から田面水へリンが溶出するか定かではない。

また花山・安中（2014）は、溶出したリンが、植物プランクトンや土壌表面の付着藻類に吸収され、大部分が有機態のリンに変化してしまうことを示した。近年、様々な資材を用いて水中からのリンを回収する技術の開発が進んでおり、特にTakedaら（2010）は、安価で農地への還元の観点からも有利な木質資材を使って水中からのリン回収に成功している。木質資材を含んだいずれのリン回収において、リンが無機態であることが条件となる。それゆえ、コストおよび再利用の面から、田面水からリンを回収するためには有機態リンを無機態リンに回帰させる必要がある。

湖沼では、水生生物の排泄によって生じる栄養塩は、一次生産に役立つことが明らかにされている（Horne&Goldman, 1999）。水田に生息する水生生物の一種である巻貝によるプランクトンの濾過摂食は、無機態リンの回帰量の増加を期待させる。また、巻貝は土壌表面の付着藻類を摂食する。栄養塩が豊富である土壌表面は付着藻類の増殖に有利であり、藻類の増殖と水生動物の摂食のバランスによって多くの田面水へのリンの回帰が期待される。

植物プランクトンと付着藻類は分解されるときにリンを放出する。湖沼において日射への暴露によって水面近傍の藻類が死滅することが報告されている（Horne&Wrigley, 1975）。特に、紫外線は有機物の光分解に関与している。田面水の水深は浅いため、日射は土壌表面まであまり減衰することなく到達する。それゆえ、水田において日射による光分解は死滅した植物プランクトンや摂食者の排泄物のみならず死滅した付着藻類からのリン回帰に寄与するものと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、以下の3点を目的とした。

- (1) 土壌の初期水分および紫外線が土壌から田面水へのリン溶出におよぼす影響を明らかにする。
- (2) 土壌の初期水分が田面水中の植物プランクトンの増殖におよぼす影響を明らかにする。
- (3) 田面水の水流が土壌表面の付着藻類の増殖におよぼす影響を明らかにする。
- (4) 巻貝による藻類摂食がリンの回帰におよぼす影響を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) 土壌の初期水分および紫外線がリン溶出におよぼす影響

実験には、堆肥を連用している沖積土壌の水田表土（山形大学フィールド科学センターの水田から採取）を使用した。この土を代かきし、土層厚4cm、湛水深8cmにした疑似水田を10個用意し、屋外に設置した。なお、内5個の疑似水田は、紫外線カットビニールで覆い、紫外線を除去した。実験は2016年5月11日から7月19日までの70日間行い、この間の田面水の理化学特性（D0、pH、溶存態無機リン濃度、溶存態全リン濃度、全リン濃度）を調べた。

- (2) 土壌の初期水分が田面水中の植物プランクトンの増殖におよぼす影響

堆肥を連用している沖積土壌の水田表土の湿潤土と風乾土を用い、人工気象器内（温度：25℃、照度：18klx（16時間明-8時間暗））で疑似水田における藻類の培養を行い、優占藻類の特性および田面水の理化学特性（D0、pH、溶存態無機リン濃度、全リン濃度）を調べた。

- (3) 田面水の水流が土壌表面の付着藻類の増殖におよぼす影響

1) 熱対流による水流と温度変動の関係

田面水の水流は、日射による土壌表面の加熱にともなう上向きのプルームと蒸発による水面の温度低下にともなう下向きのプルームによって生じる。お互いのプルームはそれぞれ異なる熱量をもつため、田面水中にわずかに不均一な温度分布が形成されると予想される。この不均一な温度分布を測定するセンサーとしてペルチェ素子を使用し、ペルチェ素子による温度変動と水流の関係を調べた。実験における水流は、田面水の熱対流の発生機構を模して調整した。すなわち、水深5cmとなるよう水を含んだプラスチック製の円筒容器（内径10cm、深さ

6cm)の底面を恒温水(25℃、30℃、35℃、40℃、45℃を設定)で暖め、水面は大気(20℃で固定)に開放し、水流を発生させた。ペルチェ素子(縦横各30mm、厚さ3mm)は円筒容器内の水塊の中央に設置した。水流にともなう水中の温度変化は、ペルチェ素子によって電圧に変換され、その電圧変化を5分間測定した。測定は10反復とした。また、水流の強さは、水中に3.3mol/lのKCl溶液を1ml添加し、KCl溶液が均一に拡散するまでの時間を使って評価した。

2) 水流が藻類の増殖におよぼす影響

1)で示された熱対流による水流発生装置では、土壌を容器内に入れることができない。そこで、ポンプを使って水を循環させ、強制対流による水流を発生させる装置を作製した。水流の強さは、前述と同様に水中に添加したKCl溶液が均一に拡散するまでの時間を使って評価した。実験は25℃の恒温室内で行い、水深5cmの水を含んだ500mlビーカーにペリスタティックポンプに接続されたチューブとECセンサーをセットした。そして、ポンプの吐出流量は、9.3、11.7、14.2、16.2ml/minとした。なお、実験の関係上、前述の熱対流の発生に使った容器と異なる大きさの容器を使った。そのため、熱対流および強制対流による水流の大きさを比較する方法として、拡散のみでECが一定になる時間を、各条件(温度差および吐出流量)においてECが一定になるまでに要する時間で割った値を使用した。本研究では、この値を「混合力」とした。

上記の強制対流による水流発生装置を使って、水流による大気-田面水間のガス交換と付着藻類の増殖の関係を調べた。500mlビーカーに代掻きした水田表土を使った土層厚3cm、水深5cmとなる疑似水田を、温度25℃、照度18klx(24時間)に設定した人工気象器内に6日間設置した。田面水の水流は、吐出流量0.0ml/min、14.2ml/minを設定し、田面水のDOとpHの変化を測定した。

(4) 巻貝の植物プランクトンおよび付着藻類の摂食によるリン回帰

ヒメタニシに濾過させるプランクトンとして、光合成細菌、ミドリムシ、クロレラを使用した。これらのプランクトンの量は、全リン濃度で約1mg/lになるよう調整した。それぞれのプランクトンを含んだ溶液100mlに2匹のヒメタニシを投入し、48時間後に溶液中の無機態リン濃度を測定した。

付着藻類を摂食させる巻貝として、ヒメタニシとモノアラガイを使用した。疑似水田は、堆肥を連用している沖積土壌の水田表土と300mlビーカーを用いて作成した。疑似水田の構成は、代掻き土層厚3cm、湛水深5cmとした。疑似水田は、25℃の人工気象器(明暗各12時間)内に12日間静置し、土壌表面に付着藻類を繁殖させた。付着藻類の繁殖を確認後、ヒメタニシ(平均湿重量0.95g)およびモノアラガイ(0.48g)を1匹ずつ投入した各疑似水田と巻貝を含まない疑似水田を、25℃の人工気象器(明暗各12時間)に静置した。巻貝による藻類摂食期間は、実験開始から6日間とした。実験開始から6日目に各巻貝を疑似水田から取り除き、疑似水田をそのまま人工気象器の中に22日間保管した。測定項目は、実験期間中の田面水のDO、pH、無機態リン、全リンとした。

4. 研究成果

(1) 土壌の初期水分および紫外線がリン溶出におよぼす影響

高含水比(約100%)の水田土壌において、2017年5月29日から実験終了まで、田面水のpHは、数日を除いて9前後で推移した。田面水の全リン濃度は、同年6月14日から増加し始め、7月5日までに約0.3mg/l増加した。また、同年7月7日から12日にかけて、日平均水温と地温が連続して30℃以上となったとき、短期間で全リン濃度は約0.8mg/l増加した。また、紫外線を除去した環境下においても、田面水のpHとリン溶出はほぼ同様の傾向を示した。

この結果から、高含水比の水田土壌においても、pH上昇後にリンが溶出することが示された。高含水比の水田土壌におけるpH変化とリン溶出の関係の特徴は、1) pH上昇後すぐにリン濃度が増加しなかったこと、2) 7月5日から7月12日にかけての大きなリン濃度の増加、である。

風乾した水田表土を用いた実験では、田面水のpH上昇直後からリン溶出が確認された(花山・安中、2014)。風乾土の場合、実験開始直後から田面水のDOが低下し続け、7日目に5.7mg/lとなった。これは、土壌中の活発な微生物活動による田面水のDOの消費とみなせ、土壌全層が還元化したと判断される。一方高含水比の水田土壌の場合、田面水のDOは常に過飽和となっており、土壌が酸化層と還元層に分化したと推察された。その結果、pH上昇直後からリンが溶出しなかったと考えられる。

7月5日から12日におけるリン濃度の増加は、急激な地温上昇によるものと思われる。南條(1996)は、温度上昇にともなう土壌からのリン酸の脱着促進を示した。7月5日から12日における平均地温は、5℃程度上昇し、30℃を超えた。すなわち、温度上昇にともなう土壌中のリンの脱着促進によって、可溶化したリンが増加した。この可溶化したリンの一部が、田面水の高いpHによって溶出したと考えられる。この推測についてはさらなる検討を要する。

また紫外線は、付着藻類の繁殖および死滅・分解によるリン溶出に影響をおよぼさないことが示された。時間の経過とともに、田面水が薄い茶色を呈したことを目視で確認した。この田面水の着色によって、紫外線が吸収されたため、藻類の繁殖および死滅・分解によるリン溶出に影響をおよぼさなかったと考えられる。

(2) 土壌の初期水分が田面水に発生する植物プランクトンの増殖におよぼす影響

風乾土の場合、25℃において付着藻類の発生にともなう田面水の pH が 8 以上になった後、田面水の全リン濃度が上昇し、田面水中に植物プランクトンが増殖した。ほとんどの植物プランクトンは緑色の球形の単体で存在し、直径は 5 μm 以下であった。なお、植物プランクトンの同定は困難であった。

高含水比 (100%以上) の土の場合、25℃において付着藻類の発生にともなう田面水の pH が 8 以上になっても田面水の全リン濃度は上昇せず、田面水中に植物プランクトンは増殖しなかった。しかし、土壌表面にネンジュモとその粘鞘によって形成された塊が多く確認された。

土壌の初期水分状態が植物プランクトンの特性および増殖に影響をおよぼすことが明らかとなった。高含水比の土壌におけるネンジュモの増殖は、土壌表層中の窒素が不足していたことを示す。すなわち、植物プランクトンの特性および増殖は、土壌の初期水分状態による土壌中の有機態窒素の無機化量の違いに影響されることが示唆された。

(2) 水流が付着藻類の増殖におよぼす影響

1) 熱対流にともなう水温変動の測定

容器底面と大気との間の温度差が大きくなるにともなう EC が一定値になるまでに要する時間が短くなった。EC が一定値になるまでに要した時間は、温度差 5℃ (容器底面 25℃、大気 20℃) における 230 分から温度差 20℃ (容器底面 40℃、大気 20℃) における 42 分と変化した。この結果から、容器底面と大気との間の温度差によって熱対流による水流が強くなることが確認できた。

ペルチェ素子による水中の温度変動の測定から、熱対流にともなう水流によって水中の温度分布が不均一になることが示された。容器底面と大気との間の温度差が大きくなるにともなう、ペルチェ素子の電圧値とその電圧値の変動幅が大きくなった。そして、容器底面と大気との間の温度差とペルチェ素子の電圧値の平均値の間の関係は、高い正の相関 ($R^2=0.98$) を示した。また、同様に容器底面と大気との間の温度差とペルチェ素子の電圧値の標準偏差の間にも高い正の相関 ($R^2=0.97$) を示した。この結果は、熱対流による水流の強さを水中の温度変動によって評価できる可能性を示す。

2) 田面水の水流が藻類の増殖におよぼす影響

ポンプのそれぞれの吐出流量において、EC 値が安定するまでの時間は、最小吐出流量の 9.3ml/min で約 410 分、最大吐出流量の 16.5ml/min で約 50 分となった。そして、各吐出流量と各吐出流量における EC 値が安定するまでの時間との間に高い負の相関 ($R^2=0.99$) が示された。ポンプを使った強制対流による水流の混合力は、22 から 192 となり、熱対流の水流による混合力 (29 から 160) とほぼ同じ範囲となった。この結果から、強制対流による水流も、熱対流による水流と同様に容器内の水を攪拌するものと判断した。

上記の強制対流発生装置を使って、擬似水田において、水流による大気と田面水間のガス交換が、付着藻類の増殖におよぼす影響を調べた。このときの強制対流による水流の強さは、ポンプの吐出流量 14.2ml/l で得られた混合力 143 とした。この水流の強さは、温度差 20℃ (底面 40℃-大気 20℃) で生じた熱対流の水流の強さとほぼ等しい。田面水の水流がない場合、田面水の DO は約 8mg/l から約 14mg/l に上昇し、pH は約 7 から約 9 に上昇した。一方、水流がある場合、田面水の DO は約 8mg/l から約 9mg/l にわずかに上昇し、pH は 7 を維持した。田面水の水流がない場合の DO と pH の上昇は、藻類の増殖にともなう光合成の増加によるものである。一方、水流がある場合に DO と pH に変化が生じなかった原因は、田面水と大気とのガス効果によるものと考えられる。DO の場合、光合成によって生じた過剰な酸素が、田面水から大気に放出されたと考えられる。そして pH の場合、藻類の光合成によって消費された二酸化炭素が、大気中から田面水に吸収されたものと考えられる。この結果から、水流はガス交換に寄与していることが明らかとなり、とりわけ、大気から田面水への二酸化炭素の吸収は、藻類の増殖において有利に働くことが示唆された。

(4) 巻貝の植物プランクトンおよび付着藻類の摂食によるリン回帰

ヒメタニシの濾過食による各プランクトンのリンの回帰率は、光合成細菌 0.43、クロレラ 0.22、ミドリムシ 0.18 となった。この結果から、ヒメタニシの濾過食によるリンの回帰はプランクトンの種類に影響されることが明らかとなった。

両巻貝による付着藻類の摂食は、藻類からリンを溶出させることが明らかとなった。巻貝による藻類摂食後 (摂食期間は 6 日間)、ヒメタニシ区およびモノアラガイ区の田面水の無機態リン濃度は、巻貝を含まない対象区の無機態リン濃度よりそれぞれ約 1.0mg/l と約 0.8mg/l 多くなった。

巻貝を取り除いた後、ヒメタニシ区では、田面水の無機態リン濃度は一定で推移し、28 日目の無機態リン濃度は 1.4mg/l となった。一方モノアラガイ区では、田面水の無機態リン濃度は、13 日目以降から増加し、28 日目に約 2.1mg/l となった。また対象区では、28 日目の田面水の無機態リン濃度は 1.0mg/l となった。モノアラガイは、ヒメタニシより藻類をより多く消化することが確認された。しかし、両巻貝の排泄残渣物からリン溶出は確認されず、巻貝除去後の

モノアラガイ区の無機態リン濃度の上昇は、排泄残渣物からのリン溶出によるものではないと考えられる。また、田面水の pH 上昇によって土壌から田面水へのリン溶出が知られている（花山・安中、2014）。両巻貝を除去し、かつエアポンプによる田面水の攪拌を止めた後の田面水 pH は、ヒメタニシ区で約 9、モノアラガイ区で約 8.5 を維持した。また対象区では、実験期間を通して pH は 9 以上となった。対象区とモノアラガイ区では、田面水の高 pH においてリン溶出が確認されたが、ヒメタニシ区ではリン溶出が確認されなかった。各巻貝の藻類摂食が、巻貝除去後のリン溶出に違いを生じさせた要因についてはさらなる検討を要する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 2 件）

花山奨, 安中武幸 ペルチェ素子を使った田面水の対流にともなう水温変動の測定 農業農村工学会大会講演会, 2017/8/30, 日本大学（神奈川県藤沢市）

花山奨, 會田佑太, 安中武幸 巻貝による付着藻類の摂食が田面水へのリン溶出におよぼす影響 農業農村工学会大会講演会, 2019/9, 東京農工大学（東京都府中市）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8 桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。