

# 水耕培養液中のリン酸濃度の違いが ミズゴケ属植物 (*Sphagnum*) の 生育とリン吸収量に及ぼす影響

瀬戸山央\*・根本正之\*\*・前田良之\*\*\*

(平成 25 年 2 月 12 日受付/平成 25 年 4 月 19 日受理)

**要約**：ミズゴケ属植物(*Sphagnum*)を用いた水質浄化の可能性を検討するため、リン酸濃度を 0~1.6 mgL<sup>-1</sup> に調整した培養液でオオミズゴケ (*Sphagnum palustre* L.) 及びアオモリミズゴケ (*Sphagnum recurvum* P.) を 90 日間水耕栽培し、その生長量、成分組成及び水耕液からのリン吸収量を調査した。栽培終了時、オオミズゴケおよびアオモリミズゴケの草丈はそれぞれ、水耕液中のリン酸濃度 0.1~0.8 mgL<sup>-1</sup> および 0.1~0.2 mgL<sup>-1</sup> の範囲で 20 mm 以上の値を示した。一方、両品種とも 1.6 mgL<sup>-1</sup> のリン酸濃度で草丈伸長は阻害され、栽培終了後の乾燥重量は最も低い値であった。植栽密度 (m<sup>2</sup> あたりの個体数) × 乾物重量 (個体あたりの乾物 Kg) × 植物体中リン含有量 (mg Kg<sup>-1</sup> 乾物) から算出した単位面積あたりのミズゴケのリン吸収量 (mg m<sup>-2</sup>)、および酸性ホスファターゼ活性は、水耕液中のリン酸濃度が高まるにつれて両品種ともに増加した。また、水耕液中にリン酸が存在する場合、リン酸濃度に関わらず細胞膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性は 10~13 μkatal mg<sup>-1</sup> protein の範囲にあり、ミズゴケは積極的に細胞内にリンを取り込んでいることが示唆された。以上の結果、ミズゴケ属植物の生育に最適なリン酸濃度は 0.1~0.2 mgL<sup>-1</sup> であり、1.6 mgL<sup>-1</sup> のリン酸濃度条件下で生育は抑制されたが、リン酸を吸収し体内に蓄積できた。従って、下水 2 次処理水や河川、湖沼及び湿原にみられるリン酸濃度 1.0 mgL<sup>-1</sup> 程度の低濃度リン酸汚染水の浄化にミズゴケ属植物が適応可能であることが明らかになった。

**キーワード**： *Sphagnum palustre* L, *Sphagnum recurvum* P, リン吸収, 水質浄化, 下水処理

## 1. 緒 言

近年、生活排水や産業排水等による窒素、リン由来の水質汚濁により河川や湖沼の富栄養化現象が生じ<sup>1,2)</sup>、生活排水や産業排水による下水の浄化処理後の水質改善を図ることが重要な課題になっている<sup>3,4)</sup>。一般に、下水は下水処理場にて 1 次処理 (物理的処理)、2 次処理 (生物、化学的処理) を経て河川や湖沼などへ排水される。下水処理施設に流入する水のリン酸濃度は 3~5 mgL<sup>-1</sup> とされ、2 次処理後、リン濃度は 1~2 mgL<sup>-1</sup> まで低下する<sup>5)</sup>。しかし、人口増加に伴う排水流量の増大からこれらの処理では窒素、リンを完全に除去することはできず<sup>6)</sup>、これらをさらに除去するために浮遊性有機汚泥を用いる活性汚泥処理と脱窒菌を利用して汚水中の窒素を除去する生物学的脱窒処理を組み合わせた A<sub>2</sub>O 法や微生物および植物を用いて窒素、リンを吸収、代謝して処理する高度処理 (3 次処理) の必要性が高まっている<sup>7)</sup>。

一方、地域の総人口に対する高度処理下水道を利用できる人口割合で算出された高度処理普及率は 16.9%<sup>8)</sup> と低く、

この原因として新処理方式採用のための設備費の増大が挙げられている。また、高度処理施設のコスト削減のために植物を用いて水質を浄化する植栽浄化法が最近注目されているが<sup>7,9,10)</sup>、従来用いられてきたホテイアオイやミントなどの水生植物および花卉植物は、下水 2 次処理水のリン酸濃度を 0.6 mgL<sup>-1</sup> 程度までしか低減できないことが報告されている<sup>3,11)</sup>。

ミズゴケ属植物 (*Sphagnum*) は水生植物に近い性質をもつため植栽浄化法に適応可能であると共に、リンを多量に吸収できることが報告され<sup>12)</sup>、植栽浄化に利用した後に乾燥処理し、乾燥ミズゴケのもつ高い吸水性と保水性をランなどの栽培用土として利用することも可能と考える。しかし、これまで水耕液中のリン酸濃度とミズゴケ属植物の生長及び成分組成との関係、およびリン吸収が生じる水耕液リン酸濃度の上・下限値については明らかにされていない。

本研究は、リン酸濃度を 0~1.6 mgL<sup>-1</sup> に設定した水耕培養液で 2 品種のミズゴケ属植物を生育させ、その生長量、成分組成及び水耕液からのリン吸収量を明らかにし、ミズ

\* 東京農業大学大学院農芸化学専攻 (現在 神奈川県産業技術センター化学技術部)

\*\* 東京農業大学地域環境科学部造園科学科 (現在 東京大学)

\*\*\* 東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科 (連絡責任者)

ゴケ属植物を用いた下水2次処理水や河川、湖沼及び湿原における低濃度リン酸汚染水の水質改善の可能性を検討した。

## 2. 材料および方法

### (1) 供試植物および栽培装置

東京農業大学世田谷キャンパス人工湿原より採取したオオミズゴケ (*Sphagnum palustre* L.) 及びアオモリミズゴケ (*Sphagnum recurvum* P.) (図1) を供試した。基本水耕液は水道水 (pH: 6.85, EC: 0.25 ms cm<sup>-1</sup>, K: 1.31 mg L<sup>-1</sup>, Ca: 19.9 mg L<sup>-1</sup>, Mg: 5.94 mg L<sup>-1</sup>, Na: 9.27 mg L<sup>-1</sup>, NO<sub>3</sub>-N: 2.81 mg L<sup>-1</sup>, NH<sub>4</sub>-N: 0.70 mg L<sup>-1</sup>, PO<sub>4</sub>-P: 0 mg L<sup>-1</sup>) とし、リン酸水素2カリウムを用いてリン酸濃度を0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 及び 1.6 mg L<sup>-1</sup> に調整した6試験区 (3反復) を設定した。水耕液を満たした水槽 (容積 36 L) 1つにつき、植栽基盤として市販の乾燥ミズゴケ (ニュージーランド産 AA 級) 300 g を入れた育苗箱 (32.5 cm × 22.5 cm × 10 cm) を1つ設置し、各区につき3つの育苗箱 (各区3反復) で栽培した。オオミズゴケ、アオモリミズゴケともに3000 個体以上を無作為に採取し、その後、草丈を2 cm に揃え、2 時間以内にすべての試験区の植栽基盤に植栽した (図2)。植栽密度はオオミズゴケ、アオモリミズゴケそれぞれの自然条件下における生息密度を考慮し、1 m<sup>2</sup> あたりオオミズゴケ 1010 個体、アオモリミズゴケ 2047 個体に設定した。2007 年 8 月~10 月までの 90 日間バイオトロン内 (温度 22~28°C, 湿度 50~60%) で水耕栽培を行った。水の蒸発散およびミズゴケによる養水分吸収に由来する水質への影響を防ぐため、水耕液は7日ごとに栽培期間中合計12回更新した。なお、バイオトロン内の湿度は制御され、発砲スチロールで水槽水面は覆われているため、水耕液の蒸発散量はほとんど認められなかった。

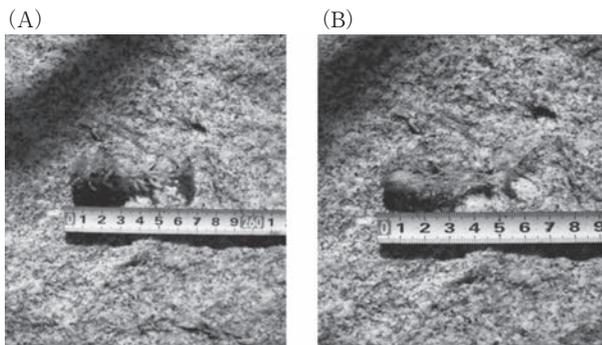


図1 オオミズゴケ (A) およびアオモリミズゴケ (B)

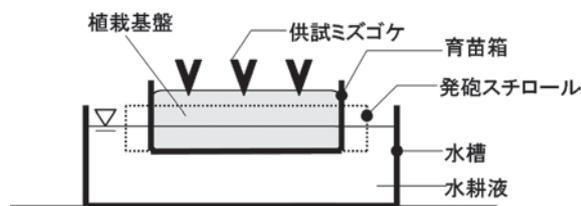


図2 ミズゴケの栽培装置概要

### (2) 分析項目

各試験区の1育苗箱において栽培開始前に無作為に選んだ60 個体の草丈、長径、分枝数及び枯死数を7日ごとに継続的に計測し、その平均値を育苗箱の測定値とした。栽培終了後、1つの育苗箱から草丈などを計測した60 個体を各試験区 (3反復) で収穫した。乾燥後、1 個体の乾物重が非常に小さいことを考慮して植栽時に採取し栽培に用いなかった余剰のものと収穫時の乾物重の差を60 個体の合計値に換算して生長量とした。乾燥後の植物体は各試験区の1育苗箱ごとにまとめて粉碎後、硝酸分解を行い、ICP-AES (島津製作所 ICPS-8100) により乾物あたりのリン及びカリウム含有量を、NC コーダー (住化分析センター NC-220F) により乾物あたりの窒素含有量を測定した。また、水耕液更新時に各試験区の水耕液中リン酸濃度をモリブデンブルー法により測定した。一方、水耕液からのリン酸吸収能力を推定するために収穫直後の新鮮物個体を供試し、酸性ホスファターゼ活性および細胞膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性を測定した。

### (3) 酸性ホスファターゼ活性の算出

酸性ホスファターゼ活性の測定は Bessey-Lowry 法<sup>13)</sup> に準じて行った。新鮮物 2 g に抽出液 (pH 7.2 に調整した 50 mM Tris-HCl, 10 mM メルカプトエタノール) 20 ml を加えて 4°C 条件下で摩砕後、4 層ガーゼでろ過し、ろ液を 13000 g で 15 分超遠心分離し、上清を粗酵素液とした。粗酵素液 0.2 ml に反応液 (pH 6.0 に調整した 50 mM 酢酸緩衝液, 6.7 mM  $\rho$ -ニトロフェニルリン酸) 2.8 ml を加え、30°C で 10 分間インキュベートして反応させた後、0.5 N NaOH 3.0 ml を加えて反応を停止し、石英セルを用いて 400 nm での吸光度を測定した。なお、粗酵素液の着色、発色液中の  $\rho$ -ニトロフェニルリン酸の自己分解の影響を除くため、粗酵素液無添加の試料を吸光度ゼロ設定用、粗酵素液をインキュベート後に添加した試料をブランク用として調整した。

### (4) 細胞膜の分離と H<sup>+</sup>-ATPase 活性の測定

細胞膜の分離と H<sup>+</sup>-ATPase 活性の測定は GALLAGHER and LEONARD (1982)<sup>14)</sup> および MAEDA ら (2008)<sup>15)</sup> の方法で行った。新鮮物 10 g を 3 mmol L<sup>-1</sup> EDTA, 2.5 mmol L<sup>-1</sup> DTT 及び pH 7.7 に調整した 25 mmol L<sup>-1</sup> Tris-Mes を含有する 250 mmol L<sup>-1</sup> シュクロース 40 ml 中でホモジナイズ後、ろ過した。ろ液を 13000 g で 15 分、その後 80000 g で 30 分間遠心分離した。得られた沈殿に 1 mmol L<sup>-1</sup> DTT と pH 7.2 の 1 mmol L<sup>-1</sup> Tris-Mes を含有する 250 mmol L<sup>-1</sup> シュクロースを 2~3 ml を加えてホモジナイズし、シヨ糖密度勾配 (34/45% シュクロース) を用いて 82500 g, 2 時間遠心分離を行い、34% と 45% 溶液の界面を細胞膜画分として採取し、細胞膜画分の確認は、H<sup>+</sup>-ATPase 活性測定時に活性阻害剤であるバナジン酸を用いて行った。細胞膜画分の H<sup>+</sup>-ATPase 活性は画分 0.5 ml に反応液 (pH 6.5 に調整した 60 mmol Tris-Mes, 6 mmol MgSO<sub>4</sub>, 100 mmol KCl, 6 mM ATP-Tris) 0.5 ml を加え、38°C 10 分間インキュベ

ト後, 50% TCA 1.0ml を加えて反応を停止させ, 放出された無機リン量をモリブデン酸ブルー法で測定した。また, タンパク質濃度は BSA を標準とした BRADFORD (1976)<sup>16)</sup> の方法で測定した。

#### (5) リン吸収量の算出

栽培期間中のミズゴケによる単位面積あたりのリン吸収量 ( $\text{mg m}^{-2}$ ) は, 植栽密度 ( $\text{m}^2$ あたりの個体数)  $\times$  生長量 (個体あたりの乾物  $\text{Kg}$ )  $\times$  植物体中リン含有量 ( $\text{mg Kg}^{-1}$  乾物) により算出した。

#### (6) リン除去率の算出

ミズゴケによる水耕液中からのリン除去率 (%) は,  $\{(\text{設定した水耕液中リン濃度} - \text{水耕液更新時のリン濃度}) / (\text{設定した水耕液中リン濃度})\} \times 100(\%)$  により算出した。

#### (7) 統計処理

有意差検定は Tukey の多重比較を用いた<sup>17)</sup>。

### 3. 結 果

#### (1) 植物の生育状況

オオミズゴケ及びアオモリミズゴケともに, 長径, 枯死数および分枝数の試験区間差は認められなかった (結果は示さず)。オオミズゴケ及びアオモリミズゴケの草丈変化を図3に示す。生育期間の経過とともに草丈はオオミズゴケ及びアオモリミズゴケともに水耕液中のリン酸濃度にかかわらず高まった。オオミズゴケはリン酸濃度  $0.1 \sim 0.8 \text{mg L}^{-1}$  で高く,  $1.6 \text{mg L}^{-1}$  で低くなる傾向を示した。アオモリミズゴケはリン酸濃度  $0.4 \text{mg L}^{-1}$  以上ではリン酸濃度が高くなるにつれて草丈は低下する傾向を示し,  $1.6 \text{mg L}^{-1}$  で最も低かった。

オオミズゴケ及びアオモリミズゴケの生長量の結果を図4に示す。オオミズゴケ及びアオモリミズゴケともにリン酸濃度  $0.1$  および  $0.2 \text{mg L}^{-1}$  で生長量は最も高く,  $1.6 \text{mg L}^{-1}$  で有意に低かった。

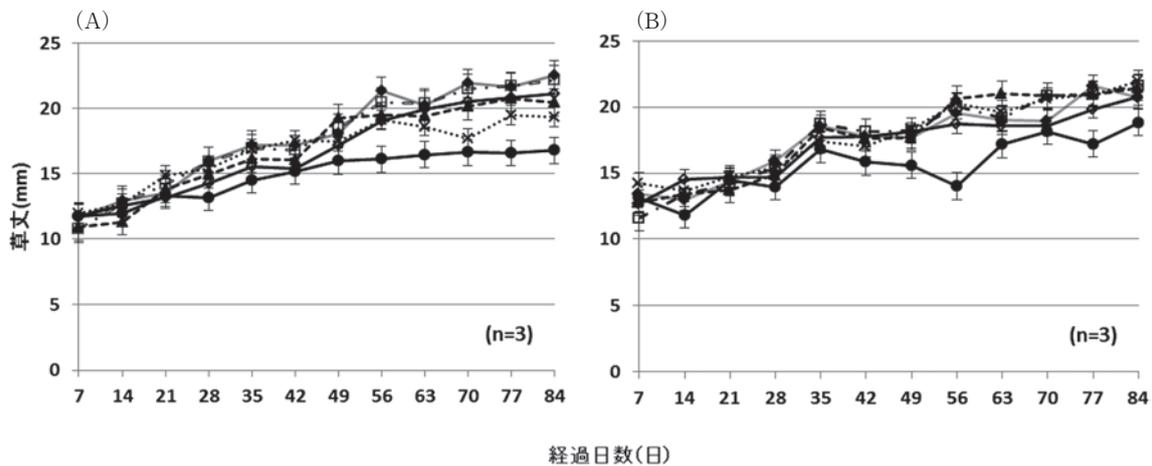


図3 オオミズゴケ (A) およびアオモリミズゴケ (B) の草丈変化 (I:標準誤差)  
 $\circ$ —  $0 \text{mg L}^{-1}$      $\blacklozenge$ —  $0.1 \text{mg L}^{-1}$      $\square$ —  $0.2 \text{mg L}^{-1}$   
 $\blacktriangle$ —  $0.4 \text{mg L}^{-1}$      $\cdots \times \cdots$ —  $0.8 \text{mg L}^{-1}$      $\bullet$ —  $1.6 \text{mg L}^{-1}$

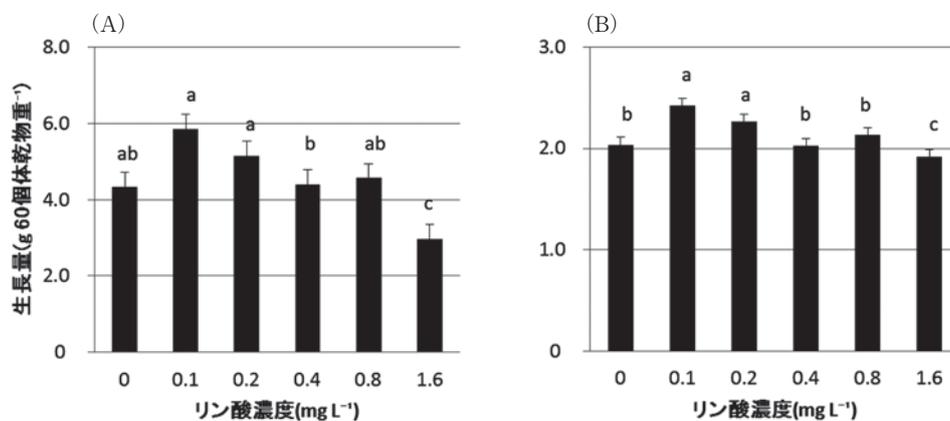


図4 オオミズゴケ (A) およびアオモリミズゴケ (B) 個体の生長量  
(I:標準誤差,  $n=3$ , a, b, c: 異文字間に5%水準で有意差あり)

## (2) 植物の成分組成

オオミズゴケ及びアオモリミズゴケの収穫時の成分組成を表1に示す。オオミズゴケ及びアオモリミズゴケともに乾物あたりの窒素及びカリウム含有量に処理区間の差は認められなかった。リン含有量は、オオミズゴケ及びアオモリミズゴケともに水耕液のリン酸濃度  $0.1\sim 0.4\text{mgL}^{-1}$  の範囲で差は認められなかったが、 $0.8$  および  $1.6\text{mgL}^{-1}$  で有意に高い値を示した。

## (3) 水耕液中からのリン除去率

オオミズゴケ及びアオモリミズゴケの水耕液更新後7日目のリン除去率を表2に示す。7日ごとの水耕液更新時に、栽培期間中合計12回測定したリン除去率の平均値は、オオミズゴケで水耕液中のリン酸濃度  $0.1\sim 0.8\text{mgL}^{-1}$ 、アオモリミズゴケで  $0.1\sim 0.2\text{mgL}^{-1}$  においてそれぞれ高い値を示した。

## (4) リン吸収量

植物体成分組成の結果を基に算出した水耕液中リン酸濃

度の違いによるオオミズゴケ及びアオモリミズゴケの単位面積当たりリン吸収量を表3に示す。オオミズゴケ及びアオモリミズゴケともに水耕液中リン酸濃度  $1.6\text{mgL}^{-1}$  でリン吸収量は最も高い値を示した。また、本試験の設定リン酸濃度範囲で、オオミズゴケ及びアオモリミズゴケともに低リン酸濃度においても水耕液からリンの吸収が行われていることが確認できた。

## (5) 酸性ホスファターゼ活性および細胞膜 $\text{H}^+$ -ATPase 活性

水耕液中のリン酸濃度の違いによるオオミズゴケ及びアオモリミズゴケの酸性ホスファターゼ活性および細胞膜  $\text{H}^+$ -ATPase 活性の結果を表4に示す。オオミズゴケおよびアオモリミズゴケともに酸性ホスファターゼ活性は水耕液中のリン酸濃度依存的に高まった。細胞膜  $\text{H}^+$ -ATPase 活性はリン酸  $0\text{mgL}^{-1}$  で最も低かったが、水耕液中にリン酸を  $0.1\sim 1.6\text{mgL}^{-1}$  含有する場合、活性は急激に高まった。しかし、リン酸濃度に関わらず活性は  $10\sim 13\mu\text{katal mg}^{-1}\text{protein}$  の範囲にあった。

表1 異なるリン酸濃度の水耕液で生育したオオミズゴケおよびアオモリミズゴケの成分組成

供試植物	水耕液中 リン酸濃度 ( $\text{mg L}^{-1}$ )	成分含有量( $\text{g Kg}^{-1}$ 乾物重)		
		N	P	K
オオミズゴケ	0	8.95 a <sup>1)</sup>	0.06 d	11.22 a
	0.1	9.20 a	0.39 c	11.19 a
	0.2	9.33 a	0.41 c	11.41 a
	0.4	9.45 a	0.43 c	10.62 a
	0.8	8.75 a	0.51 b	11.20 a
	1.6	9.20 a	0.82 a	10.75 a
アオモリミズゴケ	0	7.83 a	0.03 d	10.92 a
	0.1	7.99 a	0.39 c	9.24 a
	0.2	7.56 a	0.39 c	11.35 a
	0.4	7.61 a	0.39 c	10.25 a
	0.8	7.93 a	0.46 b	10.82 a
	1.6	8.02 a	0.78 a	9.97 a

1) a, b, c: 異文字間に5%水準で有意差あり (n=3)

表2 異なるリン酸濃度の水耕液で生育したオオミズゴケおよびアオモリミズゴケの水耕液中からのリン除去率

供試植物	リン酸濃度( $\text{mg L}^{-1}$ ) <sup>1)</sup>		リン除去率 (%)
	水耕液	7日後の水耕液	
オオミズゴケ	0.1	0.06	45.0 a <sup>2)</sup>
	0.2	0.10	50.0 a
	0.4	0.21	47.2 a
	0.8	0.46	43.0 a
	1.6	1.01	37.0 b
	0.1	0.04	60.0 a
アオモリミズゴケ	0.2	0.08	60.6 a
	0.4	0.30	25.0 b
	0.8	0.67	15.8 b
	1.6	1.27	20.8 b

1) リン酸濃度の測定値は7日ごとの水耕液更新時に合計12回行った平均値

2) a, b, c: 異文字間に5%水準で有意差あり (n=12)

表3 オオミズゴケおよびアオモリミズゴケの単位面積当たりのリン吸収量

供試植物	リン酸濃度 ( $\text{mg L}^{-1}$ )	生長量 ( $\text{g 60個体}^{-1}$ 乾物重)	リン含有量 ( $\text{mg Kg}^{-1}$ 乾物重)	植栽密度 ( $\text{個体 m}^{-2}$ )	単位面積当たりリン含有量 <sup>1)</sup> ( $\text{mg m}^{-2}$ )	単位面積当たりリン吸収量 <sup>2)</sup> ( $\text{mg m}^{-2}$ )
オオミズゴケ	0	4.32 ab <sup>3)</sup>	6 d	1010	0.44 c	0.44 c
	0.1	5.85 a	390 c	1010	38.41 a	37.97 a
	0.2	5.15 a	410 c	1010	35.53 a	35.09 a
	0.4	4.39 b	430 c	1010	31.80 b	31.36 b
	0.8	4.56 ab	510 b	1010	39.13 ab	38.70 ab
	1.6	2.97 c	820 a	1010	40.93 a	40.49 a
アオモリミズゴケ	0	2.03 b	3 d	2047	0.21 c	0.21 c
	0.1	2.42 a	390 c	2047	32.23 b	32.02 b
	0.2	2.27 a	390 c	2047	30.15 b	29.94 b
	0.4	2.03 b	390 c	2047	26.96 b	26.75 b
	0.8	2.13 b	460 b	2047	33.46 b	33.25 b
	1.6	1.92 c	780 a	2047	51.04 a	50.83 a

1) 単位面積当たりリン含有量 ( $\text{mg m}^{-2}$ ) = 生長量 ( $\text{g 個体}^{-1}$  乾物重) × リン含有量 ( $\text{mg g}^{-1}$  乾物重) × 植栽密度 ( $\text{個体 m}^{-2}$ )

2) 単位面積当たりリン吸収量 ( $\text{mg m}^{-2}$ ) = 各試験区 (リン酸濃度  $0.1\sim 1.6\text{mgL}^{-1}$ ) の単位面積当たりリン含有量 ( $\text{mg m}^{-2}$ ) - リン酸濃度  $0\text{mgL}^{-1}$  の単位面積当たりリン含有量 ( $\text{mg m}^{-2}$ )

3) a, b, c, d: 異文字間に5%水準で有意差あり (n=3)

表 4 異なるリン酸濃度の水耕液で生育したオオミズゴケ及びアオモリミズゴケの酸性ホスファターゼと細胞膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性

供試植物	水耕液リン酸濃度 (mg L <sup>-1</sup> )	酸性ホスファターゼ活性 (mkatal mg <sup>-1</sup> protein)	細胞膜 H <sup>+</sup> -ATPase 活性 (μ katal mg <sup>-1</sup> protein)
オオミズゴケ	0	0.12 a <sup>1)</sup>	4.8 a
	0.1	0.15 a	12.6 b
	0.2	0.19 b	12.4 b
	0.4	0.23 bc	10.2 b
	0.8	0.28 c	12.7 b
	1.6	0.38 d	10.8 b
アオモリミズゴケ	0	0.11 a	5.3 a
	0.1	0.13 a	12.8 b
	0.2	0.15 b	12.8 b
	0.4	0.23 bc	12.3 b
	0.8	0.28 c	12.0 b
	1.6	0.35 d	12.9 b

1) a, b, c, d : 異文字間に 5%水準で有意差あり (n=3)

#### 4. 考 察

ミズゴケ属植物はミズゴケ科ミズゴケ属に位置づけられ、世界に 100 種以上、日本では約 35 種が知られる<sup>17)</sup>。ミズゴケ属植物の特徴として、葉の透明細胞表面にいくつかの孔があり、この孔に大量の水を蓄えることができる。吸水量は植物体体積の 16 倍から 30 倍とされ、乾燥処理したミズゴケは保水性に優れるため植物栽培土として利用されている。供試したオオミズゴケは茎の長さが 10 cm 以上となり、他のミズゴケ品種と比べて生長速度が速く、温暖な地方から寒冷な地方まで世界に広く分布し最も多く見られる種であり、主に山地の湿った地上や中間湿原に大きな群落を形成する。一方、アオモリミズゴケは北半球周極域に分布し日本では北海道、本州に分布し、高層湿原の池塘に群落を形成する<sup>19)</sup>。本実験では、ミズゴケの品種によるリン吸収と生長の違いも考慮するために、異なる 2 品種のミズゴケを用いた。

オオミズゴケ及びアオモリミズゴケともに水耕液リン酸濃度 1.6 mg L<sup>-1</sup> でリン吸収は生じたものの生育は阻害された。これは、ミズゴケ属植物の主な生息地である湿原は貧栄養条件であり、低リン酸環境下での生育にミズゴケ属が適応しているためと考えられる。また、良好な生育が可能となる最適リン酸濃度および水耕液中からの高いリン除去率はいずれもオオミズゴケはリン酸濃度 0.1~0.8 mg L<sup>-1</sup> の範囲にあったのに対して、アオモリミズゴケは 0.1~0.2 mg L<sup>-1</sup> と低く、品種間で差があった。本来、オオミズゴケに比べてアオモリミズゴケは極度に貧栄養である高層湿原に生息しているためにミズゴケ品種間の生育およびリン除去率における最適リン酸濃度に差が生じたものと思われる。

下水 2 次処理後の水中のリン除去を目的とした本実験の結果、ミズゴケ属植物は品種によるリン吸収量やパターンに違いがあるものの、ミズゴケ属植物の生育に最適なリン酸濃度は 0.1~0.2 mg L<sup>-1</sup> であること、本実験で設定した最大リン酸濃度 1.6 mg L<sup>-1</sup> 条件下で生育は抑制されるが、リンは吸収され体内に蓄積していることから、リン酸濃度

1 mg L<sup>-1</sup> 程度の 2 次処理水中のリン除去にミズゴケ導入は有用と判断できた。

一般に土壌中からのリン吸収において植物は根部から酸性ホスファターゼや有機酸を分泌し、難利用性リンを無機態のリンに変換し、体内に吸収することが知られている<sup>20,21)</sup>。ミズゴケ属植物が多く生育している湿原は低リン酸濃度状態であるにも関わらず生育不良にならないことから、ミズゴケ属においても酸性ホスファターゼが分泌され、リン吸収に影響している可能性がある。本実験の結果、酸性ホスファターゼ活性は水耕液中のリン酸濃度依存的に高まり、高等植物の活性はリン酸欠乏状態で顕著に高まるとしたこれまでの報告<sup>22,23)</sup> と一致しなかった。この理由として高等植物の酸性ホスファターゼが根分泌性であるのに対してミズゴケ属植物は根が存在しないため、本実験では植物全体から酵素を抽出したこと、また、高等植物と酵素の作用機序が異なっていることなどが原因として考えられ、今後、部位別及び水耕液中の酸性ホスファターゼ活性を測定し、さらに検討する必要がある。

一方、植物の根がリンを吸収する際には、遊離のリン酸濃度に依存した複数の吸収機構が存在しており、植物における細胞レベルでのリン吸収機構として低濃度及び高濃度リン吸収機構が挙げられる<sup>24)</sup>。本実験で注目した低濃度リンの吸収は、高親和性リン吸収機構によるものであり、植物は細胞膜に存在するリン酸トランスポーターによって細胞外部からリン酸を細胞内部に取り込む。すなわち、細胞内から細胞外へ H<sup>+</sup> を輸送するプロトンポンプである細胞膜 H<sup>+</sup>-ATPase により、細胞内部と外部で H<sup>+</sup> 濃度に差を生じさせ、リンを細胞内部に輸送することが可能となる<sup>25,26)</sup>。そこで、細胞膜 H<sup>+</sup>-ATPase に注目し、その活性を調査した結果、オオミズゴケおよびアオモリミズゴケともに水耕液中のリン酸濃度 0 mg L<sup>-1</sup> で活性は最も低いこと、リン酸を含有する場合にはリン酸濃度に関わらず活性は高まり、一定の値を維持していることが示された。これらの結果は水耕液中に濃度に関わらずリン酸が存在する場合、ミズゴケは積極的に細胞内にリンを取り込んでいることを示唆している。

以上の結果, ミズゴケ属植物の生育に最適なリン酸濃度は  $0.1\sim 0.2\text{mgL}^{-1}$  であり,  $1.6\text{mgL}^{-1}$  のリン酸濃度で生育は抑制されたものの, 低濃度から高濃度のリン酸を吸収し体内に蓄積できた。従って, これまでの水生植物を用いた水質浄化では困難であった下水 2 次処理水や河川, 湖沼及び湿原におけるリン酸濃度  $1.0\text{mgL}^{-1}$  程度の低濃度リン酸汚染水の浄化にミズゴケ属植物が適応可能であることが明らかになった。

#### 引用文献

- 富士元英二, 古屋 昇, 稲森悠平 (1980) 富栄養化に及ぼす下水および生活排水処理水の影響. 日本水処理生物学会誌 **16**: 11-17.
- 高島智子, 安田郁子, 大村元気, 湯野和樹, 林真奈美 (2007) 河川水の富栄養化に及ぼす事業場排水等の影響. 日本水処理生物学会誌 **27**: 9.
- 津野 洋, 宗宮 功, 深尾忠司, 上村正樹 (1990) 花卉植物の水耕栽培による下水 2 次処理水からのりんおよび窒素の除去に関する研究. 下水道協会誌論文集 **27**: 53-60.
- 依田 修 (2009) 下水の処理システムと下水処理水の水環境への影響 (高度化する排水処理技術と支援機器). 産業と環境 **38**: 81-84.
- 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター, 下水道におけるリンの除去について, <<http://www.lber.jp/root/jp/05seika/omia/38/bkjhOmia38-3.htm>> (最終アクセス 2013 年 1 月 23 日)
- 橋本 奨 (1981) 下水高度処理施設の設計. 鹿島出版会, 東京, pp.7-8.
- 鈴木 智, 千葉信男, 中野和典, 西村 修 (2006) 植栽浄化法による下水処理水の三次処理における植栽基盤厚の影響に関する研究. 下水道研究発表会講演集 **43**: 500-502.
- 国土交通省, 平成 23 年度国土交通白書, <<http://www.mlit.go.jp/hakusyo/mlit/h23/index.html>> (最終アクセス 2013 年 1 月 22 日)
- 沖 陽子 (2001) 水生植物の水質浄化能の評価. 圃場と土壌 **33**: 8-14.
- IHIDA Y, NOUREDDIN M, FURUMOTO T and HIROSHI FUKUI H (2003) Evaluation of Plants for Absorbing Nitrogen and Phosphorus to Purify Eutrophic Water. *Journal of Society of High Technology in Agriculture* **15**: 169-172.
- 石原 暁, 笹田康子, 岡井 隆 (2004) 水生植物を活用した水質浄化実験 (第 3 報) —模擬排水による浄化実験—. 香川県環境保健研究センター所報 **3**: 64-72.
- 長野克也, 星 良和 (2006) スファグナム基盤を利用した残留肥料の吸着による水質および土壌浄化に関する研究. 九州東海大学総合農学研究所所報 **22**: 31-43.
- BESSEY O A, LOWRY O H and ROCK M J (1946) A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J.Biol.Chem.* **164**: 321-329.
- GALLAGHER S R and LEONARD R T (1982) Effect of vanadate, molybdate, and azide on membrane-associated ATPase and soluble phosphatase activities of corn roots. *Plant Physiology* **70**: 1335-1340.
- MAEDA Y and NAKAZAWA R (2008) Effects of the timing of calcium application on the alleviation of salt stress in the maize, tall fescue, and reed canarygrass seedlings. *Biologia Plantarum* **52**: 153-156.
- BRADFORD M M (1976) Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
- 新城明久 (1996) 新版生物統計学入門. 朝倉出版, 東京, pp.55-56.
- 松田行雄 (2002) ミズゴケ類の分布と湿原植生. *Journal of Phytogeography and Taxonomy.* **50**: 1-13.
- 岩月善之助 (2001) 日本の野生植物・コケ. 平凡社, 東京, pp.34-38.
- WATT M and EVANS J (1999) Proteoid roots, physiology and development. *Plant physiology* **121**: 317-323.
- 和崎 淳 (2008) 植物の低リン適応戦略機作の解明. 日本土壤肥料学会雑誌 **79**: 452-453.
- 杉山範子 (1985) ウモロコシおよびトマト葉の酸性ホスファターゼ活性におよぼすリン含量の影響. 日本土壤肥料学雑誌 **56**: 99-104.
- NANAMORI M, SHINANO T, WASAKI, YAMAMURA T, RAO IM and OSAKI M (2004) Low Phosphorus Tolerance Mechanisms: Phosphorus Recycling and Photosynthate Partitioning in the Tropical Forage Grass, Brachiaria Hybrid cultivar Mulato Compared with Rice. *Plant and Cell Physiology* **45**: 460-469.
- 三村徹郎 (2003) 細胞工学別冊 植物の膜輸送システム ポンプ・トランスポーター・チャネル研究の新展開. 秀潤社, 東京, pp.57-61.
- 柴田大輔 (1999) リン酸吸収の分子機構. 植物細胞工学シリーズ **11**: 200-201.
- 三村徹郎, 大西美輪, 深城英弘 (2007) リン環境と植物. 蛋白質 核酸 酵素 **52**: 625-632.

# Effects of the Phosphate Concentration in Culture Solution on Growth and Phosphorus Uptake in *Sphagnum*

By

Ou SETOYAMA\*, Masayuki NEMOTO\*\* and Yoshiyuki MAEDA\*\*\*

(Received February 12, 2013/Accepted April 19, 2013)

**Summary** : The possibility of water purification by planting *Sphagnum* was investigated from its growth characteristics, ion uptake, acid phosphatase and plasmalemma H<sup>+</sup>-ATPase activities. *S. palustre* L. and *S. recurvum* P. were grown in a solution with an adjusted phosphate concentration of 0~1.6 mg L<sup>-1</sup>. At 90 days after the treatment, plant length of *S. palustre* L. and *S. recurvum* P. showed over 20 mm in the 0.1~0.8 mg L<sup>-1</sup> and 0.1~0.2 mg L<sup>-1</sup> phosphate solutions, respectively. Phosphorus uptake from the solution and plant acid phosphatase activity in both cultivars showed a positive correlation with phosphate concentration, while plant growth was markedly depressed at 1.6 mg L<sup>-1</sup> phosphate. In contrast, plasmalemma H<sup>+</sup>-ATPase activities showed 10~13 μkatal mg<sup>-1</sup> protein irrespective of phosphate concentration.

The results showed that the optimum phosphate concentration for the growth of *Sphagnum* is 0.1~0.2 mg L<sup>-1</sup> in a solution, and *Sphagnum* can absorb phosphate and accumulate it in a plant even at 1.6 mg L<sup>-1</sup>. Therefore, it is suggested that *Sphagnum* can be adapted to the purification of contaminated water in secondary sewage treatment, rivers, lakes and wetlands.

**Key words** : *Sphagnum palustre* L., *Sphagnum recurvum* P., Phosphorus uptake, Water purification, Sewerage disposal

---

\* Department of Agricultural Chemistry, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture (Current affiliation : Chemical Engineering Division, Kanagawa Industrial Technology Center)

\*\* Department of Landscape Architecture Science, Faculty of Regional Environment Science, Tokyo University of Agriculture (Current affiliation : The University of Tokyo)

\*\*\* Department of Applied Biology and Chemistry, Faculty of Applied Bio-Science, Tokyo University of Agriculture (Corresponding author)