

ROSEリポジトリいばらき（茨城大学学術情報リポジトリ）

Title	循環濾過式養魚淡水槽中の硝化菌の活性について
Author(s)	永井, 恭三
Citation	茨城大学農学部学術報告(26): 109-115
Issue Date	1978-10
URL	http://hdl.handle.net/10109/5119
Rights	

このリポジトリに収録されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作権者に帰属します。引用、転載、複製等される場合は、著作権法を遵守してください。

お問合せ先

茨城大学学術企画部学術情報課（図書館） 情報支援係
<http://www.lib.ibaraki.ac.jp/toiawase/toiawase.html>

循環濾過式養魚淡水槽中の硝化菌の活性について

永井 恭三

On the Activities of Nitrifiers in a Fresh Water Aquarium with Closed Circulating System

KYOZO NAGAI

緒 言

著者は最近表題に記した金魚飼育水槽の含有硝酸態窒素の定量を依頼され、200ppm Nの多量が含まれているにもかかわらず、魚の普通に飼育されていることを知り、この種水槽中で営まれる硝化作用に深い興味を覚えた。

この種循環砂礫濾過式飼育水槽における、窒素の無機化反応や硝化作用に伴う、各無機態窒素の生成集積と、これによるpHの変化については、既に平山が海水を用いた場合の実験成績を発表している¹⁾。これらの実験は、後述の著者の行なったものと、だいたい似た規格の水槽を使用しているようであるが、高pHにおける実験（最低で5程度）の割には、多少残存NH₄-Nが多いようにみうけられる。すなわち、毎日2gの給餌の場合40日後に、7ppm NH₄-N、55ppm NO₃-Nの含量がみられ、pHはこの間に最初の7.6から5.8にまで低下している。これらの成績により濾過砂礫層の硝化菌の活性度がだいたい推定できることはいうまでもないが、特にこの種硝化菌の活性度に関しては、該報告には何も触れられていない。

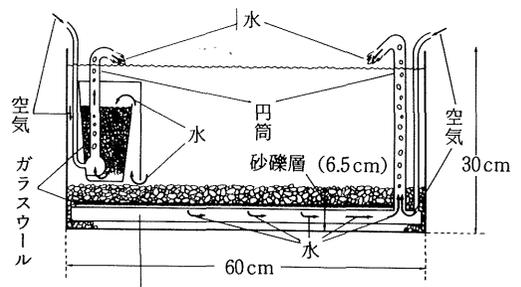
著者はかねてから、ビニールハウス畑、一般露地畑、湿田および野菜畑・果樹畑各種土壌群の硝化作用の活性度について、比較して報告してきた^{2)~7)}。初めに述べたように土壌とは全く無関係の、この種水槽内で一般にどの程度の硝化作用が行なわれるものか、硝化菌はどのぐらいの活発さをもつのか、土壌における該作用との対比に

興味をいだき、比較実験も含めて検討してみることにした。

ただ本実験は、上記のものとは異なり、すなわち水産業として魚類飼育の本格的循環式養魚法に付随した硝化菌活動でなく、一般家庭で観賞を目的とした、小規模の魚飼育のための循環濾過式水槽における硝化菌の働きを対象としたものである。この点で農業の基盤である畑・水田土壌を生息の本拠とする今までの研究対象とも全く趣を異にしたもので、特殊な環境下に存在する、いわばレジャーの人工培養硝化菌の活性の検討といえよう。

2. 実験方法

A.(1) 飼育槽における飼育状況と水中の無機態窒素量と酸度の変化の測定



集水濾過装置 (24cm×50cm×2cm, プラスチック製箱型)

第1図 循環濾過式養魚槽 (30cm×60cm×30cm, ガラス, ステンレス製)

タナゴ25匹、クチボソ8匹、ヒガイ5匹、キンギョ3匹、ドジョウ4匹計45匹の淡水魚(体長いずれも5cm内外)のいる下記飼育槽の水を30~60日後に、全部新しい飲料用井戸水50lと取り替える。底の砂礫も同時に汲み出し、タライの中で餌粕、排泄物など付着した汚染物を水で洗い落として元に戻す。魚の保健のために、手で1つかみ(約50gたらず)の食塩を水に加える。毎日の給餌量の多いほど、早く元気がなくなるが上記小魚類のうち、最も早く食慾のなくなるのはタナゴ、おそくまでおう盛なもののはキンギョであるという。今まで普通は、タナゴが摂餌しなくなったならば2、3日以内に水を交換した。

今回の実験を始めるに当たって、前回取り替え後20日しか経過していなかったが、8月12日水を全部替え、砂礫も普通どおり洗浄した。そして水取り替え直後の水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 量を、それぞれ著者の常用している方法^{8),9),8)}によって定量し、水のpHはガラス電極法による、デジタルpHメーターHM-10B(東亜電波工業)を用いて測定した。以後ほぼ10日後ごとに計4回、清澄な水を採取し同様に定量操作を行なった。夏の盛りの時期に、少し多めに給餌したためだったか、第4回の採取日の翌日夕方までに、元気の衰えたタナゴの大部分が死亡したので、9月23日に水を交換した。餌は鯉の稚魚用として市販されている粒状固形のもの(水分11.5%、窒素5.5%)を、毎日朝夕の2回に分けて計約8gずつ、水槽の表面から落として与えた。

(2) 循環濾過式飼育槽の構造と機能

第1図に実験に用いた水槽(60cm×30cm×30cm)を示した。図示するように底の全面と一隅に濾過装置が設けられている。水の循環濾過の機能を行なうとともに、水に酸素を補給する通風装置は連続的に休まずに作動しており通気速度は3l/分と測定された。

水槽の底には底面より一まわり小さい箱型のプラスチック製の濾過集水装置をいれる。この上面には、水を通す多数の穴が開けてあり、濾過用ガラスウール布板で表面全体を覆う。このガラスウール布の上部と濾過器とガ

ラス壁との透き間には数cmの厚さに濾過用の砂礫(径2~5mm)が約11lいれてあり砂礫層をなす。この砂礫は本県桜川村浮島の霞ヶ浦湖岸の荒砂を篩別して上記のように選別したもので、火成岩の角のとれた、丸みをおびた風化礫を主成分としている。本水槽に使用のものは、毎年一部は補給するが、大半は使用後10年を経過したものである。

魚の排泄物や餌の残り粕類の、大きい汚染物質は砂礫層に付着されたり微細物はウールに吸着したりして奇麗になった水は、集水装置箱の上面の穴を通して中にはいり、空気とともに円筒を上って、水槽の表面に戻される。水槽の一隅にはウールの取り替えの自由にできる、別の濾過装置が設けられていて、同じような仕組みで水の循環が行なわれる。水循環のための通気器械は両方ともに同じものが用いられており通気量は前述のように合わせて毎分3lである。

B. 濾過砂礫層の硝化菌の活性度の検討

本報告の中心課題である、砂礫層に増殖した硝化菌の活性度の検討方法は、今までの、土壌について行なってきた方法⁶⁾によった。これは土壌硝化菌の耐浸透圧性の多少、したがってまた活性の大小を比較するために用いられた方法である。

(1) 供試砂礫

8月12日に砂礫に付着した汚染物質を洗い落とし、水を全部取り替えたことは上述したが、19日後の8月31日に水採取と同時に、底の砂礫も数十グラムをすくい取って、これを供試した。また9月23日実験終了に当たって洗浄する前に、前回よりやや多めに採取し、これについても実験を行なった。

(2) 実験操作

a. 酸化的タン水下の硝化作用(未処理砂礫供試)

実験開始19日後に採取した砂礫を上皿天ピンで12gをなるべく水や大きい礫を除き均一な大きさにそろえて採り、ペトリ皿(直径9cm)に入れ、これに常用のN+P+K液(試薬一級硫酸アンモニウム0.5g、同リン酸

一カリウム、リン酸二カリウムいずれも0.1gを水にとかして250mlとしたもの) 1ml (435 μ g N) と水10mlを加える。静かに振り動かしてから、シャーレのふたをして30°C定温器内に静置する。毎日だいたい2回、静かにまわして、必要ならば水を補給する。別に比較のため、硝化作用の著しい活性をもつビニールハウス畑の沖積層土壌を供試した。すなわちその保存風乾土壌(<1mm) 0.5gを上記同様にペトリーざらに採り、水10mlとN+P+K液1mlを加え30°Cに放置した。

一定期間(7~30日)後に、懸濁水のpHを測定してから、残存NH₄-N量、生成NO₂-N、NO₃-N量を次のようにして求めた。ゴム棒の先端でシャーレ内の砂礫を強く押しつけ混ぜながらこすり、表面に付着していた各種固形物を50mlメスフラスコに濁り水とともにいれ、N-KClを少量ずつ砂礫に加え、同一操作を繰り返した。数回後に全部の砂礫を漏斗内にあげこみ、N-KClの少量ずつで数回強く吹きかけ洗浄してfill upする。振とう後2、3日静置してから上澄み液中の一定量を採り、A.(1)の場合と同様にして定量する。

b. 水少量の場合の硝化作用(未処理砂礫供試)

a.と同様に砂12gを50mlビーカーに採る。上記N+P+K液1ml(435 μ g N)と水適量を滴下し、十分に砂礫の湿潤状態にあることを確かめる。短い細ガラス棒で砂をまぜ、なるべく均一に底に広げ平らにしてから棒は内におき時計ざらでふたをして30°Cに放置した。毎日ガラス棒で砂をかき混ぜ水を補給する。一定期間後の各定量操作はa.の場合と同様に行なう。

別に実験終了後に採取した砂礫も供試したが、これは次のように揮散NO₂-N量もしらべてみた。採取した砂12gを著者常用の浅ざら(高さ8mm, 径55mmガラス製円筒形)に入れ、N+P+K液1ml(435 μ g N)、または別に調製したN+P+K液(硫酸アンモニウム1.25g, リン酸カリウム塩はともに0.1gを250mlにとかす) 1.0ml(1100 μ g N)を加えてからコンウェーユニット(径10cm)の内室におく。外室に1%炭酸カリウム6mlをいれ、ユ

ニットの口の大きさに合わせ輪状に切りとった、上記溶液に浸した後乾かした濾紙を、ユニットのまわりにのせる。薄い円形ガラス板でふたをして30°C内に置く。なお比較のために、ビニールハウス畑と同様に硝化活性の高い、野菜畑風乾土壌(<1mm) 1gに多量NH₄-N(1100ppm N)を添加し、上記のコンウェーユニットインキュベーション法を行なった。揮散NO₂-N量の定量法は次のようにした。ユニットの上においた濾紙は外室のアルカリ液とともに、0.5% NaOHと水で繰り返し洗い100mlの定容とする。その一定量をとり、比色法でNO₂-N量を求める。またpH測定は50mlビーカーに浅ざら内の試料を移しいれて必要な最少の水を加えて行ない、各無機態窒素の定量はa.の場合に準じて砂礫に付着したものをよく洗い落とした後に行なった。

c. 水少量の場合の硝化作用(風乾砂礫供試)

b.と同じく実験開始19日後に採取した砂12gを50mlビーカー内に秤取後、2日間そのまま室内に静置しておいて、ほとんど風乾させた。これに上記N+P+K液1ml(435 μ g NH₄-N)と水をb.と同様に少量加えてから30°Cに同じように放置した。incubationおよびその後の処理もb.と同じ。

3. 実験結果と考察

第1表 飼育槽水の無機態窒素含量(ppm)とpH値

水取り替え後の飼育日数	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	pH値
0*	0.35	こん跡	0.75	7.27
(8月21日) 9	0	〃	18	6.08
(8月31日) 19	0	ほとんど発色せず	41	4.77
(9月11日) 30	0.2	〃	58	4.25
9月21日 40	0.35	〃	76	3.90

* 茨城県内の低地の井戸水の特徴が示される

A. 飼育槽水の無機態窒素含量とpHの変化

第1表に実験開始時の新しい井戸水注入直後から、実験終了まで10日後ごとの各窒素含量とpH値を示した。第2表には開始6日後の8月18日からの実験期間中の毎日の、水槽所在室の最高および最低気温を示した。

第2表 実験期間中の飼育槽所在室の最低最高気温(°C)

月日	最低	最高	月日	最低	最高
8月18日	24	28	9月5日	20	23
19	24	30.5	6	20	25
20	27	31	7	20	25
21	25.5	32.5	8	19	25
22	23	33	9	19	28
23	23	32	10	23	30
24	22	32	11	19	24
25	21	29	12	19	21
26	22.5	30	13	20	21
27	22	29	14	20	24
28	22	31	15	19	24
29	24	31.5	16	18	23
30	24	32	17	18	28
31	—	—	18	21	27
9月1日	21	26	19	21	27
2	21	27	20	23	28
3	22	27	21	20	27
4	20	26			

第1表を見れば、飼育槽水中にはNH₄-Nがきわめて微量で生成したものはすぐにNO₃-Nに酸化することがわかれる。pHの低下は非常に著しく、40日間で7.27から3.9までに下がった。この成績は緒言で述べた平山のものよりもはるかに硝化菌の活性であることを示している。実験の終わり頃になってタナゴの死亡したのも、酸性毒によることが大きいと推察される。何よりも驚く

べきことは、このような強酸性状態になりながらも、硝化成速度は初めの頃と全然変化がなく、NO₃-N量は終始直線的な規則正しい増加を示したことである。

この硝化速度だけからみても、本飼育槽の硝化菌が度外れた活性をもつことは否定できない。どうしてこのような性質を獲得するに至ったかは今後の興味深い検討課題となるであろう。付言すればタナゴは死亡数日前から摂餌しなかったが、キンギョはいずれも実験最終日まで食欲があり終始元気であったという。

B. 砂礫層の硝化菌の活性度の検討

第3表に砂礫の風乾処理の有無の場合など、まとめて実験結果を掲げた。

さて土壌硝化菌と水生硝化菌の活性の比較検討ということになれば、それぞれの含有菌数についても考慮されなければならないであろう。本実験では砂礫供試量は土壌の約12~25倍となっており、これについては異論も出るかも知れない。これは今後の検討問題としたい。ただ海水を用いたこの種濾過養魚槽の約50メッシュ海砂中の硝化菌は、飼育する前にはほとんど存在しなかったが、飼育後1~2か月で10⁵~10⁶ cell/gの増殖がみられ、その後は平衡が保たれる¹⁰⁾ということと、土壌中の該菌も好条件下では10⁷ cell/g以上の存在も知られている¹¹⁾という事実から、供試土壌との割合は粒度も考慮すればそれほど均衡を失したものでないと考えられる。

まず19日後採取未風乾砂礫中の硝化菌の硝化成績を述べると、タン水下においても、水の少ない湿潤状態にあっても、pH 4.84という悪条件から出発して、7~15日間の短期間のincubationで、添加NH₄-Nの微量を残すのみで大部分は硝酸に酸化されているという、驚異的な結果が得られた。さきに報告したように湿田土壌硝化菌は、水分の少ない畑状態では格段にその働きが劣化する²⁾。土壌菌と水生菌を同一に論ずることは不適當かも知れないが少なくとも浸透圧については、いずれにも液量の多少による影響はみられるものと考えられる。さらに意外であったことは、土壌菌では活性の最も劣弱な湿田

第3表 砂礫層または土壌の硝化菌による硝化実験（数値は μg ）

試料	処理	inc. 日数	NH ₄ -N		増加 NO ₃ -N (揮散 NO ₂ -N)	inc.後の pH (H ₂ O)
			inc. 前	inc. 後		
無処理砂礫 (水交換19日後採取)	酸化的	15	435	88	425	4.54
	タン水状態	30	435	0	530	4.58
	水少量	7	435	55	495	3.75
	湿潤状態	15	435	88	460	3.73
風乾処理砂礫 (水交換19日後採取)	同上	15	435	425	50	5.30
		30	435	175	300	4.44
無処理砂礫 (実験終了後採取)	コンウェー ユニット法 (水少)	7	435	125	335 (3)	3.59
		15	1100	355	495 (1)	
ビニールハウス 畑土壌	酸化的	15	500	175	280	4.90
	タン水状態	30	500	55	370	4.71
野菜畑 越谷土壌	コンウェーユニット 法(水少)	15	1100	0	920 (5)	4.37

- 注) 1. 採取時砂礫層の pH 4.84 (19日後採取のもの), 3.97 (終了後採取のもの) 砂礫供試量 12g
2. 市毛土壌初めの pH 5.58, 越谷土壌初めの pH 6.81 土壌供試量市毛土壌 0.5g, 越谷土壌 1g

土壌のものは、風乾処理後の畑水分では硝化作用は全然行なわ²⁾ないのに、2日間風乾後の砂礫中の硝化菌は、無処理のものに比し、非常に劣った成績ではあるが、30日後に約60%以上硝化の活性を示す。湿田同様に本来水生であるにもかかわらず、この活性を維持できるのは、いかなる理由によるのであろうか。上述したように、わずか0.1%程度の食塩濃度がこの耐性と活性を付与したのであろうか。これらは今後に検討したい。

次に畑土壌のうちでは、活性の大きいハウス土壌の酸化的タン水下の硝化成績と比べてみると、供試量に問題はあるが、砂礫の場合より好ましい pH 下での反応開始であるのに、15~30日間の生成硝酸量ははるかに少ない。砂礫生息菌の7日間という短期間の incubation 成績をみても、添加 NH₄ はほとんど大部分 NO₃ に酸化しており、これらの優れた成績より、砂礫生息菌は野菜畑・ハウス畑土壌のものと同程度の活性化がみられるとしても、まちがいないといえよう。

実験終了後に採取した砂礫中の硝化菌の実験成績についていえば、湿潤状態の少水分の場合、普通量添加の NH₄ を、pH 3.97 という強酸性下にもかかわらず、1週間て約 $\frac{3}{4}$ 硝化している。多量添加のものは15日間で約 $\frac{1}{2}$ を示し、成績は劣る。比較試験として野菜畑土壌のうちでも、最も硝化活性の高い、越谷土壌 1g について 1000 μg NH₄-N 添加の同一実験を行なったが、15日間にその全部を硝化し、見掛けは砂礫菌の成績をはるかに上回った。いずれにせよ、このような酸性条件下で強い硝化活性を示したものは今までに知らない。その検討は今後に待つが、十分な通気、乏しい栄養下で増殖してかかる特性をもつようになったものであろうか。

4. 要 約

タナゴ、クチボソ、金魚など小淡水魚数十匹を觀賞用に飼育している、循環砂礫濾過式養魚槽 (60cm×30cm×30cm, 通風量は2か所で計約3 l/分) に生息している硝

化菌の硝化活性を、土壤硝化菌のものと比較する目的で、次の実験を40日間飼育魚の状態をみながら行なった。実験期間は8～9月の暑い時期で、餌は鯉の稚魚用のものを毎日朝夕2回に計8g、分けて与えた。

1. 飼育槽の古い水を新しい飲料用井戸水に全部交換後、ほぼ10日めごとに、水交換を必要とするまで40日間に5回水を採取し、pHを測定し同時に $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量を定量し変化の状態をしらべた。

2. 水を取り替え実験を始めてから19日後と42日後に砂礫層(粒径2～5mm)から一部砂礫を採りそのpHを測定後、大きい粒子は除いてなるべく均一に、そろえた12gに約435(1100) μg $\text{NH}_4\text{-N}$ と少量の水、または10mlの水を加える。19日後採取の砂礫は無処理のもののほか、風乾したものも供試した。これらを湿潤または酸化的タン水状態で7～30日間、30°Cでincubationをして、pHの変化と残存 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、生成 $\text{NO}_3\text{-N}$ 量を求めた。

比較のため土壤硝化菌のうちで、最も活性を示すと考えられる、ビニールハウスおよび野菜畑土壤のものについて、風乾土0.5～1g(<1mm)に $\text{NH}_4\text{-N}$ を上述の量だけ加え、同様なincubation実験を試みた。

得られた実験結果は次のようであった。

1. 養魚槽の水は40日間に、pHが7.27から3.90までに低下し、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は1ppm以下から76ppmに上昇した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ は終わりと始めのそれぞれ10日間に0.3ppm、なか20日間にはほとんどなかった。 $\text{NO}_2\text{-N}$ は終始こん跡量であった。またタナゴは41日後に大部分死亡したが、金魚は当日になっても摂餌していた。

2. 19日後採取砂礫をそのままincubationしたものは、普通量添加(435 μg $\text{NH}_4\text{-N}$)のもので、7～15日間にその大部分が硝化していて、水の多少は関係がないようであった。pHは初めの4.8が3.7にまで低下した(水の少ない場合)。ビニールハウス土壤は0.5g供試、普通量 NH_4^+ 添加で水の多い場合でも、15日間でpH5.6から4.9に、硝化成績は添加量の約60%にとどまった。

砂礫風乾後水少量添加の場合の硝化成績では、15日後

30日後にそれぞれ $\text{NO}_3\text{-N}$ は、添加普通量 NH_4^+ の10%、65%を示した。湿田土壤硝化菌には、このような場合全くその生産能力はない。

以上の実験結果より、循環濾過砂礫層のある養魚淡水槽に生息する硝化菌は、低pHや浸透圧変化に耐性の強い性質を獲得したように考えられその活性度は今までに最も高い活性硝化菌と思われた、ビニールハウスや野菜畑土壤硝化菌に匹敵するように推察された。詳細な比較検討はさらに今後に行ないたい。

最後に本実験は茨城大学農学部勤務文部技官 村田兼吉氏の土浦市小松町在のお宅で、観賞用に十年来連続ご使用中の、前記養魚槽を利用して行なったものであることを付記する。毎日の一定量の餌の給与、気温調査などの飼育管理および分析のための水や砂礫の採取運搬その他定量分析以外の必要な操作は、みな同氏のご尽力によったものである。ほかに種々有益なご観察や参考資料を教示していただいた。ここに熱心なご協力に対し、心から厚くお礼申し上げるしだいである。

文 献

- 1) Hirayama, K.: Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, **36**, No. 1, 26 (1970)
- 2) 永井恭三・久保田正亜・小松鋭太郎: 土壤肥料, **39**, 199 (1968)
- 3) 永井恭三・久保田正亜・小松鋭太郎: 同上, **39**, 370 (1968)
- 4) 永井恭三・久保田正亜・小松鋭太郎: 同上, **40**, 74 (1969)
- 5) 永井恭三・久保田正亜: 茨大農学術報告, **No. 21**, p. 27 (1973)
- 6) 永井恭三・久保田正亜: 土壤肥料, **41**, 453 (1970)
- 7) 永井恭三・小池三千夫・田村義昭: 茨大農学術報告, **No. 25**, p. 35 (1977)
- 8) 永井恭三・久保田正亜: 土壤肥料, **43**, 60 (1972)

- 9) 永井恭三・吉田早苗：茨大農学術報告, No. 24, p. 85 (1976)
- 10) 川本信之編：養魚学総論, p. 631 (1974) 恒星社厚生閣
- 11) Alexander, M.: Introduction to Soil Microbiology, p. 284 (1961), John Wiley & Sons, Inc.

Summary

For the purpose of comparing the activity of nitrifiers in sand layer (6.5 cm in height) of a fresh water aquarium (30cm x 60cm x 30cm) with closed circulating system with one of the bacteria in field soil, the following two experiments were carried out.

1. The pH value, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ in the aquarium water were determined five times after glass electrode, micro-diffusional and colorimetical methods at intervals of ca. 10 days since fresh water was poured in. About several tens of small fresh water fishes were throughout cultured in the aquarium with 8g of feed per day and 3ℓ of air per minute supplied.
2. After ca. 20 days or 40 days since the water exchange, 12g of filter sands (dia. 2~5mm) were prepared for the nitrifying experiment equalizing grain size roughly. A 50mℓ beaker or Petri dish including the sands and 435 or 1100 μg $\text{NH}_4\text{-N}$ with either a little moisture or a sufficient water supply was incubated for 7~30 days at 30°C. After incubation pH value, $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ were determined as mentioned above.

The results obtained were as follows.

1. The pH value dropped from 7.27 to 3.90 showing the regular increase in $\text{NO}_3\text{-N}$ from 1 to 76 ppm for 40 days. $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_2\text{-N}$ were as a whole negligible.
2. Nitrification with 435 μg $\text{NH}_4\text{-N}$ added to filter sands sampled before was especially outstanding in both cases regardless of considerably acidic conditions, the most part of $\text{NH}_4\text{-N}$ being nitrified within 15 days.

From these results it is reasonably supposed that nitrifiers in filter sands of the fresh water aquarium with closed circulating system are remarkably active and resistant to both low pH and high osmotic pressure compared with those in paddyfield soils.