

イシクラゲの有効活用

2501 足立美空 2532 原さつき 2623 梶村実由

要旨

イシクラゲ (*Nostoc commune*) の窒素固定能力や保水性、乾燥耐性を活用する事で、化学肥料に頼りすぎない持続可能な農業を目指す。イシクラゲの細胞塊を、植物の根元に添えること(イシクラゲマルチ)で植物の成長促進効果があるかを確認する。

5つの条件でシロイヌナズナを栽培し、葉の枚数の変化を計測した(実験Ⅱ)。また、5つの条件でチンゲン菜を1か月ほど栽培し、葉の長さを計測した(実験Ⅲ)。

実験ⅡもⅢも、イシクラゲマルチを行った区画では、硫安(一般的な窒素肥料)を付与した区画に劣らない程度の成長が見られた。

イシクラゲマルチにより、窒素欠乏状態の植物の生育が改善された。また窒素の付与には即効性があり肥料として活用できそうだ。

1. はじめに

通常作物は化学肥料を投与することで窒素を得ている。化学肥料は近代において化学工業技術が飛躍的に発展し、人工的に窒素成分を土壤に付与することを可能とし農業生産に大きく貢献することとなった。



図1 地点②から採取し異物を取り除いたイシクラゲ

しかしながら、この化学肥料の過剰付与に伴い土壤劣化が進行している。国連食糧農業機関

(FAO)によると食料生産に重要な地球上の土壤の33%以上が既に劣化しており、2050年までに90%以上の土壤が劣化する可能性があるという。

そこでネンジュモ属に属する陸生藍藻イシクラゲ (*Nostoc commune*) を化学肥料の代替として活用することを考えた。イシクラゲの窒素固定能力や保水性、乾燥耐性を活用する事で、化学肥料に頼りすぎない持続可能な農業を目指す。

今回の実験では、窒素欠乏株に様々な方法でイシクラゲを付与し、どれほど影響があるのかを評価した。

2. 事前調査

(1) 校内生息地の環境

恵那高校内の全5地点で実施した



図2 恵那高校におけるイシクラゲの分布
地理院地図より引用・加筆

表1 各地点のイシクラゲの分布

	地点①	地点②	地点③	地点④	地点⑤
分類	植栽の地表	植栽の地表	グラウンド	グラウンド	グラウンド
状態	・土 ・シロツメクサやイネ科草本あり ・やや乾燥	・土 ・シロツメクサやイネ科草本あり ・乾燥 ・斜面	・砂利 ・まれにイネ科草本あり ・非常に乾燥	・砂利 ・イネ科草本あり ・非常に乾燥	・砂利 ・イネ科草本あり ・非常に乾燥
日当たり	よい	よい	非常によい	非常によい	よい
踏み付け	なし	なし	ややあり	ややあり	あり
大きさ	1.0～8.5 cm	1.0～6.5 cm	0.5～2.0 cm	0.5～1.0 cm	0.3～0.8 cm

3. 実験 I イシクラゲの最適な乾燥方法

(1) 目的

今後の実験に使用するイシクラゲの質量統一のために湿潤状態からどのような条件で完全乾燥するか調べる。ただし、自然に近い状態で負荷を抑えて乾燥させる必要がある。

そこで乾燥温度とイシクラゲの質量や状態の変化を調べる。

(2) 仮説

イシクラゲは水分を全て失うと質量の変化がなくなり、一定の質量となり完全乾燥する。高温であると乾燥時間は短くて済むが、細胞にダメージがある可能性がある。

(3) 使用器具

イシクラゲ、インキュベーター、シャーレ、キムタオル、電子天秤、ピンセット、パッド

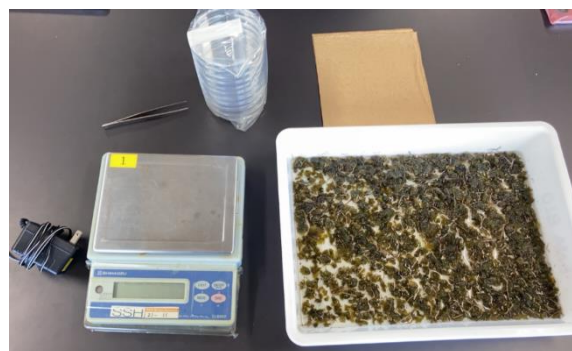


図3 使用器具

(4) 実験方法

①イシクラゲを一日精製水につける。(土や草などの異物は取り除く)

②ピンセットでイシクラゲを取り、キムタオルで水分をとる。

③電子天秤にシャーレを置き、その上に②のイシクラゲを約9.5gずつ乗せる。

各10個ずつ(お互いにくっつかないように間隔をあける)

④インキュベーターを(i) 30℃と(ii) 50℃に設定し、24時間の間隔で電子天秤質量を測定する。

⑤乾燥イシクラゲを再び精製水に24時間つけ、状態を確認する

(5) 結果

いずれも24時間後は質量の変化がほとんどなかった。

(i) 乾燥させたイシクラゲを再び水の中に1日浸すと、乾燥させる前のイシクラゲと比べて、柔らかく弾力がなくなり、混ぜると形を崩した。顕微鏡で確認したところ、数珠状細胞の形状は正常であった。

(ii) 24時間から48時間後の変化はわずかに見られた。イシクラゲに水を加えたとき、

(i)の時のように液状化せず、乾燥前のイシクラゲに近い状態であった。

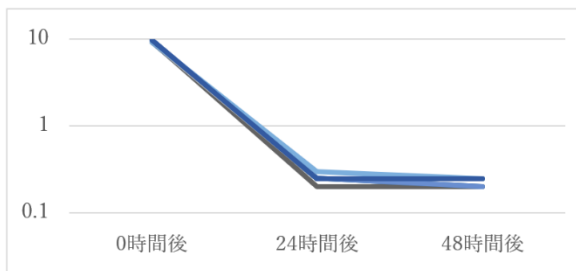


図4 50°C設定での乾燥変化率

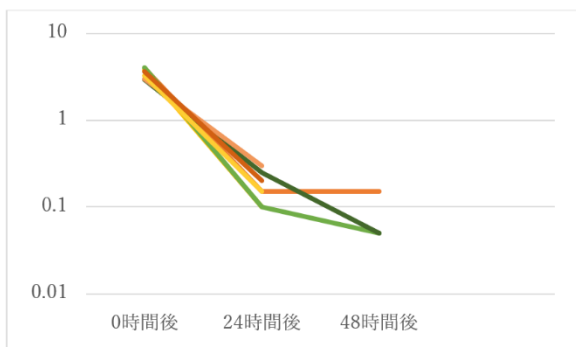


図5 30°C設定での乾燥変化率

一部測定可能質量を下回ったため測定不可

6) 考察

(i) では乾燥温度が高すぎたためイシクラゲにダメージがかかり、液状化したと考えられる。数珠状に細胞は並んでいたことから、細胞外多糖が変性し、結合を保てなくなったと考えた。(ii) の様に 30°C で乾燥させることで、イシクラゲへのダメージはほぼなく、3 日間で完全に乾燥させることができると判断できる。

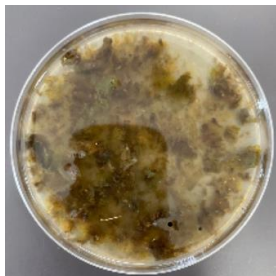


図6 液状化したイシクラゲ

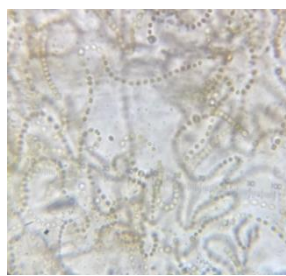


図7 液状化したイシクラゲの細胞

4. 実験Ⅱ シロイヌナズナの生育

モデル植物であるシロイヌナズナを用いて葉の枚数を観察する

(1) 仮説

イシクラゲの窒素固定作用が土壤に作用するのならばシロイヌナズナの葉の枚数は増える

(2) 使用器具

インキュベーター、人工気象器、ポット、ピンセット、シャーレ、電子天秤、反射シート、バーミキュライト、ざる、イシクラゲ、シロイヌナズナ、硫酸、ラベル、スコップ、キムタオル、すり鉢、ハイポネックス、シロイヌナズナ種子（理研バイオリソースより提供を受けました）

(3) 実験方法

①ポットにバーミキュライトを入れて、種を 10 粒ずつ 6 つの穴をあけて植える（6 月 8 日）

気温 20°C 湿度 70% の人工気象器に入れ発芽後に植え替える。

②使用するイシクラゲを 30°C に設定したインキュベーターで 3 日間乾燥させておく。

③バーミキュライトと赤玉土を 1 : 1 で混合し、ポットに土を詰め、水をパッド内に張る。

④発芽の 1 週間後に初期肥料として薄めたハイポネックスを与える。7 月 14 日 1 ポットに 1 株となるようシロイヌナズナを移植する。

⑤人工気象器に入れる。設定は以下の通りとする。

温度；20°C 光周期；(明期 16h 暗期 8 h)

湿度；50~60% 光強度；5000lx~6000lx

⑥5 つの区画について各 5 ポットずつ栽培する。なお、A~C は②で乾燥させたのち、1 日水に浸したイシクラゲを用いた。

区画 A イシクラゲ（そのままの状態株周りに置く（イシクラゲマルチング））

区画 B イシクラゲ（すり鉢で粉碎して株周りに置く（海苔の佃煮状））

区画 C イシクラゲ（アルミホイルを株元に被せて遮光）

区画 D 硫酸（1 ポットあたり 0.02 g）

区画 E コントロール

⑦バットからの底面給水のため、水が乾かないよう補給し続けた。区画を設定してからは平日のみ、全てのポットにおいて、株周りに上から水をかけた。



図 8 ポットのイシクラゲの配置

⑧移植後から3週間、各ポットの葉の枚数を平日毎日計測する。

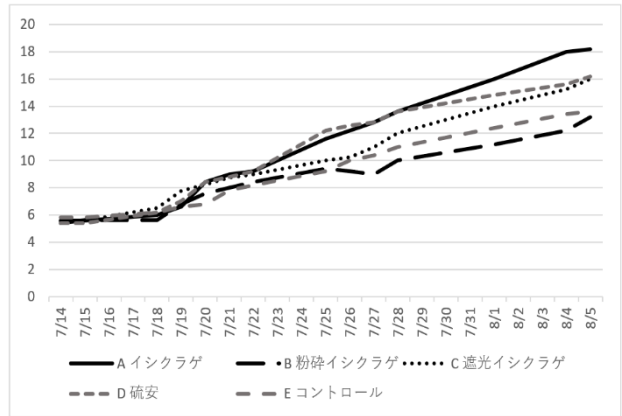


図 11 シロイヌナズナの葉の枚数の変化

(4) 結果



図 9 植え替え直後(左から順に区画 A~E)



図 10 最終日の様子(左から順に区画 A~E)

葉の枚数の変化は大きいものから A 通常の湿潤状態イシクラゲ、D 硫安、C 遮光イシクラゲ E 通常シロイヌナズナ、B 粉碎イシクラゲの順となった。

(5) 考察

一般的に窒素欠乏状態では、植物全体の生育が悪くなり、葉の生長が止まり、葉が黄色く見えるなどの症状が現れる。

実験結果は A イシクラゲの湿潤状態であれば化学肥料である D 硫安よりも葉の枚数が多く、成長しているが、C 遮光イシクラゲは A に比べ葉の枚数は少なくなったことから光が生育に関係しているのではないかと考えられる。ただしアルミホイルと土壌の間に隙間が空いてしまったことで人工気象器の横からの光が側面に当たってしまう部分が出来てしまい一部窒素固定をしてしまった可能性がある。

B の粉碎イシクラゲは細胞がすりつぶしたことで何らかのダメージが生じ、成長を妨げていることも考えられる。しかしこれらの結果からイシクラゲが土壌に窒素を供給しているかどうかは葉の枚数のみで考えると、今回は生育度合いの観点からのデータのみであるため、葉の枚数は他の要因によって成長が促進された可能性もあるため確かとは言えない。

5. 実験Ⅲ チンゲンサイの生育

(1) 目的

窒素の付与によって作物全体の生育は向上する。特に葉は大きく育ち、色は緑色に育つ。

葉の大きさをより明確に調べるために葉物野菜であるチンゲン菜を実験対象として実験を行う。また前回の反省を生かし遮光の方法を変更する事にした。

(2) 使用器具

プランター、バーミキュライト、チンゲン菜、軽石、イシクラゲ、スコップ、硫安

(3) 実験方法

- ①プランターに軽石を底に入れる
- ②バーミキュライトを入れる
- ③プランターの中央に深さ 1cm の溝を掘り、種をすじまきする
- ④軽く土をかぶせる
- ⑤水やりを朝と夕方にする
- ⑥発芽後 2 回に分けて間引きする (各 15 株)
- ⑦プランターを A~E の 5 つに分けそれぞれに付与する (9 月 7 日)

以下の通りとする。

区画 A イシクラゲ (実験 I の方法で乾燥させたイシクラゲを 1 日水に浸し豊潤状態にする)

区画 B イシクラゲ(A 状態のイシクラゲをすり鉢で粉砕する)

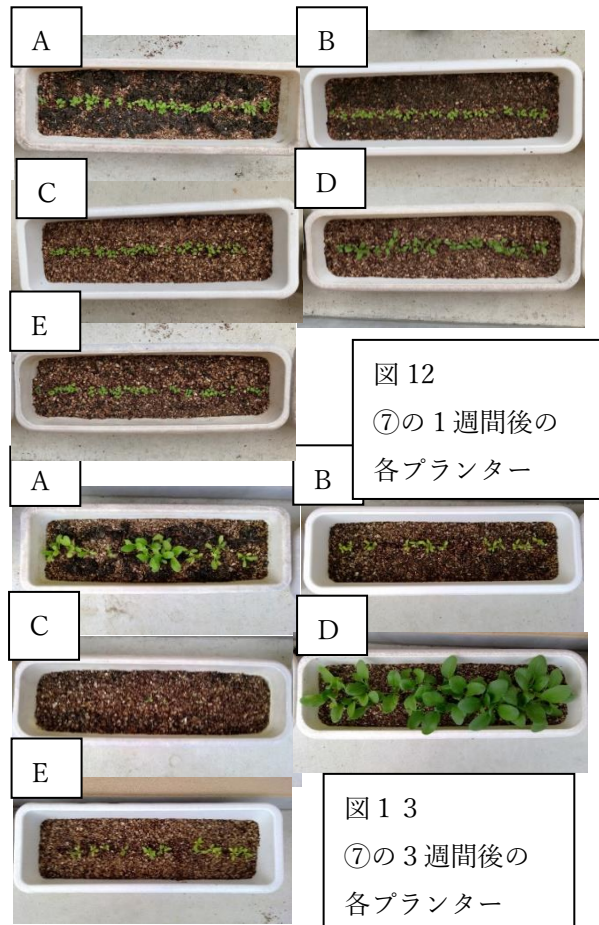
区画 C イシクラゲ (A 状態イシクラゲを土に入れて遮光する)

区画 D 硫安 (10.0 g 9 月 30 日追肥 10.0 g)

区画 E そのまま栽培する

⑧区画 A~E の葉で最も大きな葉の茎から葉の先端までの長さを測定する。また葉の色についても観察する。

(4) 結果



Bは途中で枯れてしまった。

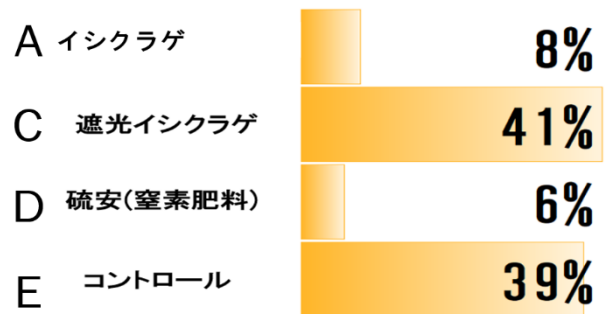
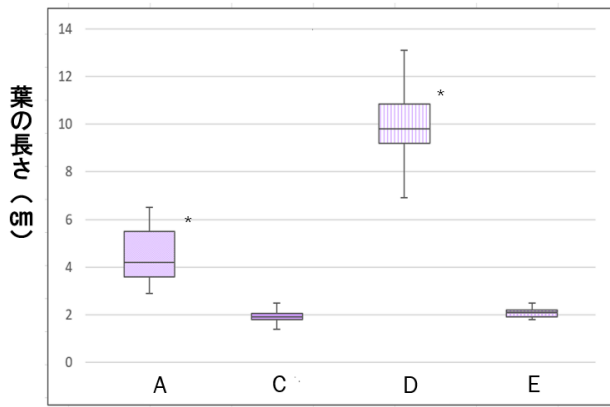


図 14 葉の黄変率



図 15 葉の長さの平均



*: $p \leq 0.05$

図 16 葉の長さの分布

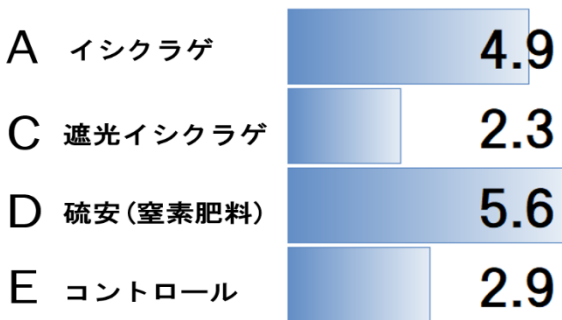
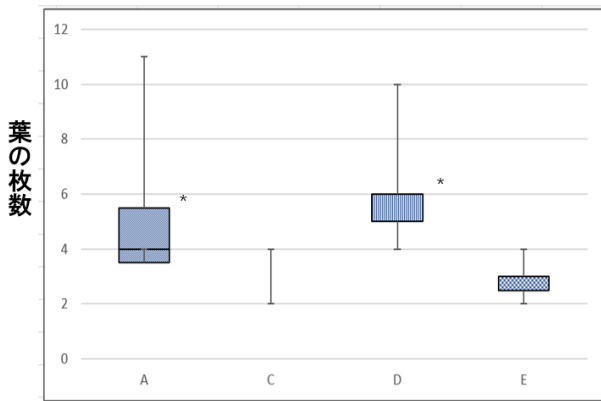


図 17 葉の枚数の平均



*: $p \leq 0.05$

図 18 葉の枚数の分布

(5) 考察

B, C, E の葉が小さく、葉が黄色に変色しているものが多く、一部枯れてしまった物が多いなどの窒素欠乏の症状が見られることから土壤に窒素は供給されていないと考えられる。一方 A は窒素肥料を付与した D と同じように葉と茎は大きく、色も緑色である点から、葉や茎の成長が促進されており窒素十分である状態に当てはまるため窒素が土壤に供給されるといわれる

る。また図 12 のように付与後 1 週間の段階で A と D は他と比べて成長をし始めていたことから肥料としての即効性も期待することができるとと思われる。一方で A は C と比較すると遮光していない F の葉が大きいことから光がイシクラゲに当たり、窒素を与える窒素固定が影響したことが考えられる。細胞を破壊した G は葉が小さく、黄色くなり枯れてしまった株が多く見られたため、ダメージを与えられ何らかの成長を阻害するような影響が出た可能性があることが予想される。

6. まとめ

実験 I より

気温 30℃ で乾燥させた (ii) のほうが自然状態に近い状態で乾燥させることができるが、(i) の 50℃ の時より遅い 3 日程で完全乾燥することが分かった。

実験 II より

湿潤状態のイシクラゲは作物に何らかの成長促進作用があると思われるが原因は不明である
実験 III より

湿潤状態のイシクラゲは窒素固定をし、窒素を土壤に付与している可能性が高いと思われる。また窒素の付与には即効性がある可能性があり肥料として活用できそうだ。しかしイシクラゲは粉碎や遮光をするとコントロールより成長しない。

実験 II, III より

通常湿潤状態のイシクラゲは窒素肥料である硫安には及ばないが、窒素肥料として活用することができると考えられる

7. 展望

実験 1 においては、質量測定頻度を増やし、より正確なデータを得たい。また今回の結液状化したイシクラゲの機能についても検証を行いたい。次に実験 2, 3 については今後、イシクラゲやチンゲン菜の窒素含有量を測定することで作用の成長を阻害した原因や今回の実験

でイシクラゲの窒素供給能があることを確認し、窒素以外の栄養素を最低限与えた上で、窒素欠乏の状態を作って実験したい。また粉碎処理によって及ぼされた作物への悪影響の原因についても検証したい。

8. 謝辞

本研究の遂行にあたり、ご指導を賜りました伊藤先生、田中先生、協力していただいた本校1年生の水島さん、佐々木さん、シロイヌナズナの提供をしてくださった理化学研究所に感謝の意を表します。

9. 参考文献

- ・「土のひみつ」日本土壌肥料学会「土のひみつ」編集グループ 朝倉書店出版
- ・「Nostoc 属シアノバクテリアが形成するアグリゲートの物理・科学的ストレスに対する抵抗性」横山ら（2005）
- ・「陸棲藍藻 Nostoc sp. HK-01 の乾燥藻体の乾燥耐性」木村駿太（2018）
- ・「食と農業から土壌と環境を考える」松尾成夫
- ・「空気中の窒素を肥料とする窒素固定植物の創出」名古屋大学大学院生命農学研究科ゲノム情報機械学研分野
- ・土と微生物 Vol. 59 No. 1 pp. 3~7(2005)
「Nostoc 属 シアノバクテリアが形成するアグリゲート(イシクラゲ)物理・化学的ストレスに対する抵抗性」横山ら
- ・「3-1-1 植物を織る(シロイヌナズナ)」学習院大学理学部
- ・「モデル植物を利用した遺伝学的研究」コラム 4(2017)国立研究開発法人国立克研究所
- ・「イシクラゲ—藻類の多様性と可能性—」尾張智美
- ・農林水産技術研究ジャーナル 22 巻 5 号「環境保全型農業における新肥料の活用」庄子貞雄(1999)

- ・ニューカントリー67 巻 4 号「窒素の役割と重要性：作物の生命活動に必要なタンパク質を構成」谷 昌幸

- ・「日本における化学肥料消費の動向と問題点」西尾道徳

- ・小特集 省資源 と循環型農村社 「農耕地における物質循環と環境問題」増島博

- ・「正しく知ろう！！肥料の基礎知識」JA 梨北

- ・低温生物工学会誌 「ラン藻の化学生態と乾燥耐性」梶山ら

- ・「世界土壌資源報告書」（2015 年）国連食糧農業機関

- ・「未来を担うイシクラゲ」恵那高校 鈴木ら