

微生物と葉の分解速度の関係

3531 濱島明朗 3506 今井悠人 3620 成瀬恵叶

要旨

私たちは、特定の木の下にはその木の落葉を分解するのに適した微生物がいるのではないかという疑問から、このテーマを設定した。分解速度の関係を調べるために竹、ヒノキ、アメリカハナノキの土壌と落葉を用いて落葉の減少量を調べる実験を行った。また、土壌や落葉に生息する微生物の種類や量を調べる実験を行った。それらの実験からヒノキの土壌を用いた試験区のみ落葉の減少量が少ないことが分かった。また、ヒノキの土壌と落葉の微生物の数は他の落葉や土壌に比べて少ないことや、一部の土壌や落葉では微生物の種類を特定することができた。今後は、特定できていない土壌や落葉に生息している微生物の種類を特定していきたい。

1. 目的

- ①微生物の種類によって葉の分解速度がどれほど異なるかを調べる。
- ②土壌によって微生物の種類がどれほど異なるかを調べる。

2. 仮説

- ①特定の木の下にはその木を分解するのに適した微生物が存在する。
- ②微生物が生息する場所によって生態を変えている。



図 1. 使用した土壌の様子 (ヒノキ)

3. 使用した材料、装置及び方法

<材料、実験器具>

- ・ヒノキの土壌と落葉・竹の土壌と落葉・アメリカハナノキの土壌と落葉・低温インキュベータ (BITEC-300, 株式会社島津理化)・霧吹き・ふるい (5 mm 四方、7 mm 四方)・はさみ・ピペット・電子天秤・すり鉢・すりこぎ・葉さじ・蒸留水・ビーカー・メスシリンダー・ガラス棒・寒天培地
- ・pH メーター (LAQUAtwin-pH-22B, HORIBA)・pH4.01 標準液・pH6.86 標準液 (図 1、2、3)



図 2. 使用した実験器具



図 3. pH メーカー

・実験 1

- ① 各土壌を乾燥させ、ふるいにかけて大型生物を取り除く。
- ② ①土壌を各種類ずつ 10.0g ずつ 3 つに分けて、滅菌シャーレに移す。
- ③ 採取した各種類の落葉を 2 cm×2 cm に切り取り、②の滅菌シャーレと組み合わせて 9 通りの試験区を作る。
- ④ 平均値をとるために③の試験区を 3 回作り、計 27 区間の試験区を準備した。
- ⑤ 試験区の土壌と落葉を十分に乾燥させた状態でそれぞれの試験区の重量を量った。
- ⑥ それらを、35℃に保った低温インキュベータの中で各試験区の微生物を培養した。
- ⑦ 試験区に 1 日 2 回霧吹きで水を与え、試験区を湿らせた。
- ⑧ 試験区の写真を毎日撮り、変化を比較した。
- ⑨ 3 か月後、実験開始時との質量変化を調べるために、土壌と落葉を十分に乾燥させ、それぞれの試験区の質量を量った。

・実験 2

- ① 実験 1 と同様に、土壌と落葉を採取し、乾燥させる。
- ② ①をそれぞれ 20g ずつ量り、ビーカーに入れる。
- ③ ②に蒸留水 50ml 入れ、5 分間攪拌する。
- ④ ③を 24 時間放置し、pH 測定に用いた。
- ⑤ pH メーカーを、pH4.01 標準液、pH6.86 標準液を用いて、二点校正を行った。
- ⑥ 校正した pH メーカーの遮方蓋を開き、表面

- センサを覆うように試料を滴下した。
- ⑦ pH の値を確認し、表面センサを洗浄した。
 - ⑧ ⑥、⑦を各試験区 2 回ずつ行った。

・実験 3

- ① 実験 1, 2 と同様に土壌と落葉を採取し、乾燥させる。
- ② ①をそれぞれ 1g ずつ量り、試験管に入れる。
- ③ ②に蒸留水を 9ml 入れ、攪拌し希釈倍率 10 倍の溶液を作る。
- ④ ③の溶液を 1ml 取り、さらに 9ml の蒸留水を入れ、希釈倍率 100 倍の溶液を作る。
- ⑤ ④の溶液を 1ml 取り、さらに 9ml の蒸留水を入れ、希釈倍率 1000 倍の溶液を作る。(図 4)
- ⑥ ピペットを用いて、寒天培地の上に広げる。
- ⑦ ⑥を 24 時間培養する。
- ⑧ 図鑑を用いて、微生物の種類やコロニーの数を特定する。



図 4. 希釈倍率 1000 倍の溶液

左から、アメリカハナノキ (落葉)、ヒノキ (落葉)、竹 (落葉)、アメリカハナノキ (土壌)、ヒノキ (土壌)、竹 (土壌)

4. 結果

・実験 1

目視では、アメリカハナノキの落葉の色が変化した以外の大きな変化はみられなかった。(図 5、6)

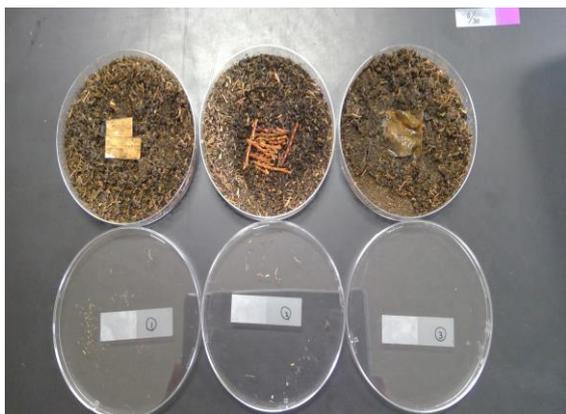


図 5. 6月30日の試験区の様子
左から、竹、ヒノキ、アメリカハナノキ

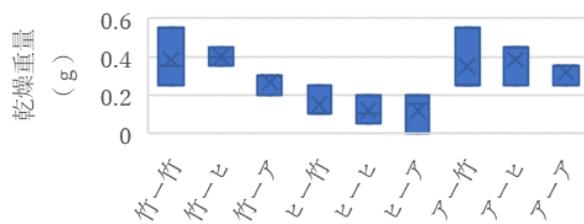


図 6. 9月27日の試験区の様子
左から、アメリカハナノキ、ヒノキ、竹

乾燥重量は、全ての試験区で減少していた。また、ヒノキの土壌の使用した試験区のみ落葉の減少量が少ない傾向にあった。同じ土壌と落葉の組み合わせであっても、樹木によって、乾燥重量に大きな差がみられた。(表1、図7)

表 1. 乾燥質量の減少量 (g)

落葉 \ 土壌	土壌		
	竹	ヒノキ	アメリカハナノキ
竹	0.38	0.15	0.35
ヒノキ	0.4	0.12	0.38
アメリカハナノキ	0.27	0.12	0.32



土壌と落葉の組み合わせ (土壌-落葉)

図 7. 乾燥重量の減少量

図中のヒ…ヒノキ、ア…アメリカハナノキ

・実験 2

土壌、落葉ともに、大きな変化がみられなかった。しかし、土壌では、ヒノキの pH が、落葉では、アメリカハナノキの pH の値が一番高いことが分かった。(表 2、3)

表 2. 土壌の pH

土壌 (pH)	1	2	平均
竹	7.06	7.11	7.085
ヒノキ	7.09	7.25	7.17
アメリカハナノキ	7.15	7.15	7.15

表 3. 落葉の pH

落葉 (pH)	1	2	平均
竹	7.14	7.01	7.075
ヒノキ	7.03	7.02	7.025
アメリカハナノキ	7.12	7.1	7.11

・実験 3

(微生物の数)

明確な微生物の数を求めることが出来なかった。目視で各試験区の微生物の数を調べたところ、多い順に

- ①アメリカハナノキ (土壌) ②竹 (土壌)
 - ③アメリカハナノキ (落葉) ④竹 (落葉)
 - ⑤ヒノキ (落葉) ⑥ヒノキ (土壌) であった。
- (図 7)

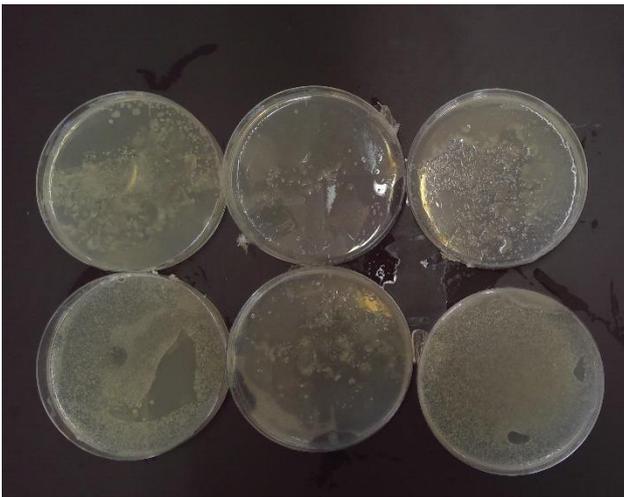


図 7. 培養した寒天培地の様子

上の段左から竹、ヒノキ、アメリカハナノキ
(すべて土壌)

下の段左から竹、ヒノキ、アメリカハナノキ
(すべて落葉)

(微生物の種類)

4 試験区の微生物の種類を特定することができなかった。しかし、アメリカハナノキの土壌とヒノキの落葉では、微生物の種類を特定を微生物図鑑を用いてすることができた。

アメリカハナノキ (土壌)

Beggiatoa Rhodopseudomonas Kluyver et van
in Czurda et Maresch
1937

ヒノキ (落葉)

Colpoda Colpoda steini Maupas 1883

5. 考察

・ヒノキの土壌を用いた落葉の減少量が少ないことや、ヒノキの落葉や土壌に存在している微生物の数が少ないことが分かった。それらのことから、ヒノキの落葉を微生物が分解することで抗菌物質が分泌されその物質が土壌に広がり作用しているのではないかと考えた。

・ヒノキ、竹に抗菌作用が含まれているのにも関わらずこれらの土壌と落葉を用いた試験区の落葉の減少量が多いことからこれらの抗菌作用を土壌中や落葉に付着している微生物には作用しないと考えた。

・ヒノキの落葉の pH が他の試験区に比べ小さいことから、抗菌作用のある弱酸性のヒノキチオール (pH3.5-4.0) が少量含まれているのではないかと考えた。

6. 展望

・実験 1 では 3 か月間と短い期間で行ったので、長い時間をかけて、落葉の分解量を比較していきたい。

・実験 3 ではすべての試験区で微生物の種類を特定することができなかったため、特定していきたい。

7. 謝辞

協力して下さった先生方ありがとうございました。

8. 参考文献

・山中, 岡部 「伊豆諸島三宅島での火山噴出物堆積地でのクロマツおよびオオバヤシャブシの生息する土壌中における細菌, フランキア菌および外来菌根菌の分布」日本林學會誌 85 巻 2 号 2003 年 5 月 pp.147 - 151

・東京大学出版会 「化学と生物 161 号」 1977 年 pp.268 - 274

高橋和成 「落葉の付着細菌による有機物の分解」

- ・堤, 岡林, 四手井 「林木落葉の分解について (Ⅱ)」 京都大学農学部演習林報告 1961 年
- ・東北森林管理局 ヒノキチオールの特性
(www.rinya.maff.go.jp)
- ・高校農業実験, 「農業化学基礎実験-4. 土壌 pH 測定 2 pH メーカー」, 岐阜県教育委員会
(gakuen.gifu-net.ed.jp/contents/kou_nougyou/jikken/Subkagakukiso/index.html)/
- ・株式会社アテクト 「大腸菌群の微生物検査手順」
(atect.co.jp/bio/products/pdf/atectfunmatu_desoxy.pdf)
- ・眞鍋、谷本、橋田、大井 「微細竹粉から開発した竹紙の抗菌・消臭性能及び竹紙の力学的作用について」 愛媛大学教育学部紀要第 58 巻 2011 年 pp. 171 - 177
- ・小島、須藤、千原 「環境微生物図鑑」 株式会社講談社 1995 年