

6 分解者の生息条件と定量

1. 目的

実生活では馴染みがうすく眼にふれる機会が少ない分解者であるが、生態系では様々な場所に多種多様なものが多数存在する。タンパク質を分解する枯草菌の仲間を対象にして、学校敷地内のどんな場所に存在するか、その生息に適した条件は何であるかなどを調べてみた。

2. 準備

露光しないで現像したリバーサルフィルム（プラスチックマウント付き）

移植ごて 温度計・最高最低温度計 定規 方眼紙（トレーシングペーパー）

スライドビューアー シャーレ 高温定温器（恒温器） 低温定温器（冷蔵庫） 天秤

3. 方法

事前準備

校内の何か所か（今回は4か所選定した）、環境条件の異なる場所を選定しておく。

選んだ場所の条件・状況を記録する。

選んだ場所の土壌を採取しておく。



図 1

実験 I 野外における土壌中の分解者の量・活性を調べる

- ① 選んだ場所に、プラスチックマウントを埋める。（図 1）
- ② 埋めた場所の地温・土湿・埋めた深さ（フィルム面の
上端を基準とした）を記録する。
- ③ 5日間放置する。（予備実験により決定したが、冬期は
結果からもわかるように、より長時間の放置が必要とな
る）
- ④ マウントを取り出しフィルムを水洗する。ゼラチン層
がはげないように注意する。
- ⑤ 腐食の様子を観察し方眼紙に写し取る。（スライドビュー
アー上でスライドフィルムの上に方眼紙を置き、腐食部
分を写し取る 図 2）
- ⑥ 腐食率（腐食面積÷フィルム面積×100）を計算する。

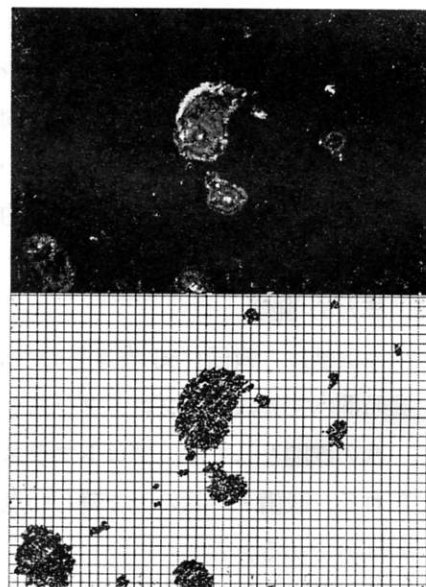


図 2 腐食したフィルム（上）
と方眼紙（下）

実験Ⅱ 土壌の含水量（土湿）の差による分解者の活性の差を調べる

- ① 採取した土壌を、同量（100 g）ずつシャーレ3枚に分ける。以下シャーレに入れる量は常に100 gとする。
- ② 1枚は乾燥させる。1枚は適当な湿りけを持たせ適湿*¹とする。最後の1枚は多量の水分を加え過湿とする。
- ③ マウントを埋め、恒温器中で5日間放置する。含水量が変化しないように蓋をしておく。
- ④ 実験Ⅰの④～⑥の操作を行う。

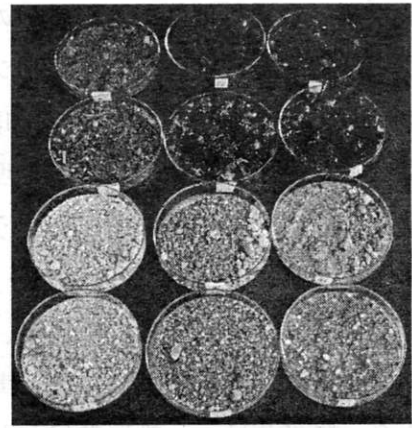


図3 左から乾・適・過湿
手前から奥へA・B・C・D

実験Ⅲ 土壌温度（地温）の差による分解者の活性の差を調べる

- ① 採取した土壌を、同量ずつシャーレ3枚に入れる。
- ② それぞれ適湿となるように水分を加え、マウントを埋めて蓋をする。
- ③ それぞれ1枚は高温定温器（恒温器）へ、1枚は定温低温器（冷蔵庫）へ、1枚は常温（室内）で5日ほど放置。なお、恒温器の温度設定については、酵素活性が高くなると推測される温度（38℃）とした。室温等については、表5を参照。
- ④ 実験Ⅰの④～⑥の操作を行う。

実験Ⅳ 陽当りの違いによる分解者の活性の差を調べる

- ① 採取した土壌を、同量ずつシャーレ2枚に分ける。
- ② 適湿となるよう水を加えマウントを埋める。
- ③ 屋外の陽当りの良いところ（陽*²）に並べ、片方は太陽光を遮り中陰となるようなもので覆う。気温の差が出にくいように、風の通るものが好ましい。また、雨のかからないところが良い。
- ④ 5日ほど放置するが、水分が蒸発し易いため、常に気を配る。
- ⑤ 実験Ⅰの④～⑥の操作を行う。

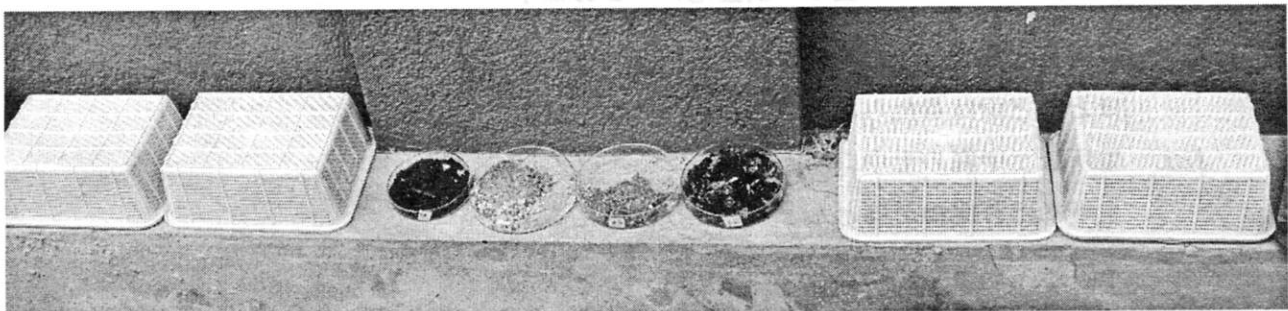


図4 中央4個が陽当たりが陽としたもの、両側4個は遮蔽物により中陰としたもの

実験Ⅴ 加熱処理による影響*³の有無を確認する

- ① 採取した土壌を、同量ずつシャーレ2枚に分ける。
- ② 片方は150℃で20分ほど加熱処理し、もう一方は加熱しない。
- ③ 適量の水を加えマウントを埋め、蓋をして5日ほど放置する。
- ④ 実験Ⅰの④～⑥の操作を行う。

*1 土湿は、一般に乾・適湿・湿・過湿の5段階に分ける。湿は強く握ると水分がしみ出す程度、それより水分が多ければ過湿、少なければ適湿。この実験では土壌により、適湿～過湿になると考えられる加水量が異なる。実際に加水した量については、表4を参照。

*2 陽当りは、一般に良好なところから不良なところまでを、陽・中陰・陰の3段階に分ける

*3 実験Ⅴは自然界での条件を意識したものではなく、Ⅰ～Ⅳとは全く異なる目的の実験である。

4. 結 果



図5 調査地A～Dの様子

- 左上 場所A：グラウンドの縁、コンクリートの上の砂
ほとんど雨は当たらないが、わずかにコケが生えている。
- 右上 場所B：中庭の土中、サクラの下
土中には有機物がほとんど無いように見える。
- 左下 場所C：枯草等の集積所
枯草は堆肥状態となって腐葉土化しており、ミミズも多い。
- 右下 場所D：生け垣の下、枯れ葉等が堆積
ほとんど雨があたらないため、乾燥している。

表 1 土を採取した場所とその環境条件

場 所	A	B	C	D
場所の位置	グラウンドの縁	中庭の土中	枯草堆積場	生垣の下
土 湿	乾	適湿	適湿	乾
土 壤	サバ土	赤土混入	腐葉土	黒色土
粒 子	砂利～シルト	粘土～砂	砂～腐葉	泥質
土壌の色	白	薄茶	黒	黒
深 さ	表層(0cm)	地中(5~10cm)	腐葉土中(5~10cm)	表層(0cm)
陽 当 り	陽	中陰	中陰	陰
雨 当 り	不良	やや不良	やや不良	不良

表 2 5日間の天気と気温

日付	計測時刻	実験室内気温℃	校舎外気温℃	天気
9/5	10:00	28.5	29.0	晴
9/6	15:30	28.0	27.5	晴一時雨
9/7	16:40	29.3	30.5	快晴
9/8	16:20	29.0	28.6	曇
9/9	16:25	29.5	31.4	晴
9/10	16:40	28.8	28.7	雨のち晴

実験室内の最高気温の平均
30.3℃
実験室内の最低気温の平均
27.4℃

調査期間は、降水がほとんど無かったため結果に影響が出ていることが推測される。9/6の降雨もほんの短時間のことであった。

実験 I の結果

地温（土壌温度）はA以外はほぼ同じであることから、それ以外の要因が結果に影響したと考えられる。AとDはほとんど腐食されていないことを考えると、土湿の影響が高いと推測される。

Cの腐食率が高いことは予想通りであった。

表 3

	A	B	C	D
腐食率 (%)	0	8.7	63.9	0.5
地温 9/5	35.0	27.4	27.5	26.9
地温 9/10	28.6	27.0	27.0	26.9
土湿	乾	適湿	適湿	乾
深さ(cm)	2	4	4	3
陽 当 り	陽	中陰	中陰	陰

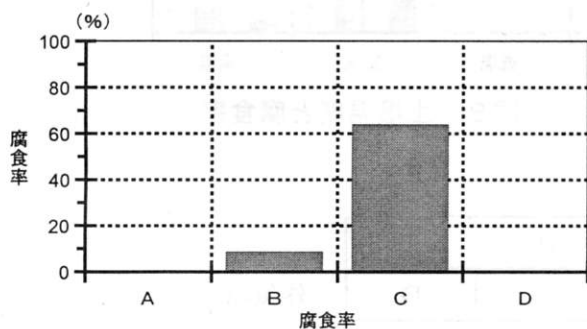


図 6 調査地別腐食率

実験Ⅱの結果

表4 土湿と腐食率 (恒温器の温度38℃)

乾燥状態では、やはり腐食が起らない。 Bでは湿り気を与えても腐食が進まなかった。Aのグランドの砂中やDの生垣の下にもやはり分解者がいることがわかる。従って実験Ⅰの結果が、やはり土湿によるものである可能性が高い。	No.	土湿		A	B	C	D
	1	乾	腐食率 (%)	0.0	0.0	0.0	0.1
			加水量(ml)	0	0	0	0
	2	適	腐食率 (%)	4.3	2.6	92.7	97.6
			加水量(ml)	15	20	40	30
	3	過湿	腐食率 (%)	99.8	2.0	99.9	99.9
加水量(ml)			50	50	100	70	

一方で、実験ⅠにおいてBに腐食が生じていたことは、埋め戻すときに表層土が混じってしまったためであると考えられる。

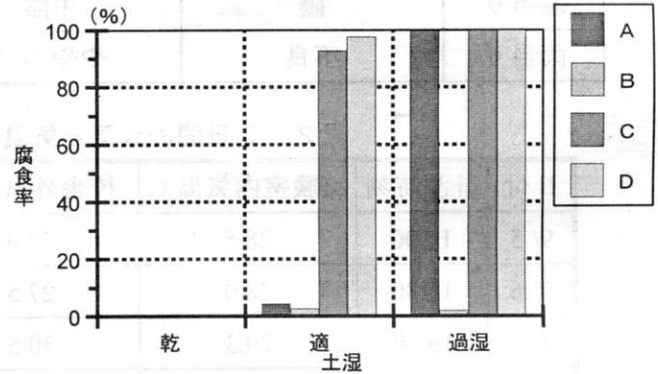


図7 土湿と腐食率

実験Ⅲの結果

表5 温度と腐食率

No.	場所	土壌温度 (℃)	腐食率 (%)			
			A	B	C	D
1	冷蔵庫	6.0	0.0	0.0	0.7	0.1
2	室温	26.5 ~ 31.0	24.7	11.7	88.7	93.5
3	恒温器	38.0	4.3	2.6	92.7	97.6

これも予想通り、酵素活性が高い温度と考えられる恒温器及び、それに近い温度である室温において、近い腐食率を示した。6℃では酵素活性が低いため、ほとんど腐食していない。Cの腐葉土中、Dの生垣では実験Ⅱと同様、高率の腐食が行われた。

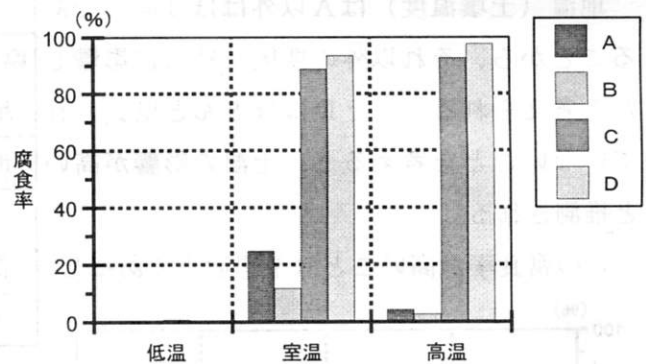


図8 土壌温度と腐食率

実験Ⅳの結果

表6 陽当りと腐食率

No.	陽当り	相対照度*4	腐食率 (%)			
			A	B	C	D
1	良	100	21.2	0.0	71.2	73.2
2	不良	22	94.3	0.0	76.0	51.3

外気温
27.5 ~ 31.4℃*5

この実験においては、野外に放置したため乾燥の度合いが高く、常に給水を必要とした。蒸発量に対する給水量が、一定であったという保証がないため、誤差の大きな実験となった。それでも相対照度が5倍近く異なっている割には、大きな差は出ていない。陽当りの良否による影響は少ないという傾向が読み取れそうである。

* 4 相対照度は、日当たりの良い場所の方を100とした。

* 5 最低最高温度ではなく、日中の測定時の気温。土壌の温度とは必ずしも一致しないが、実験Ⅲの結果から活性は充分高いことが分かる。

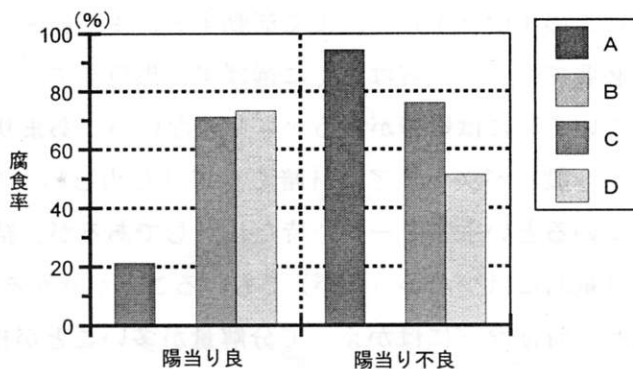


図9 陽当りと腐食率

実験Ⅴの結果

表7

No.	加熱処理の有無	腐食率 (%)			
		A	B	C	D
1	無処理	4.3	2.6	92.7	97.6
2	加熱処理	6.3	0.0	98.9	99.2

この実験は、加熱処理により滅菌すれば全く腐食されないものができ、対照として利用できそうであると考えて行ったのである。今回は電気定温乾燥器を用いて150℃で20分加熱したが、滅菌効果はなかった。その理由としては、

- ① 土をうすく広げて加熱しなかったため、内部は高温にならなかった。
- ② 電気定温乾燥器では、器内は高温になるが、内部の固体はそうならない。
- ③ 枯草菌は150℃、20分程度では死滅しない。

等考えられる。培地を20分の加熱滅菌すれば、普通は充分であると思われるので、①、②ではなく、③であることが推測できる。実際に枯草菌は、熱耐性が高い。

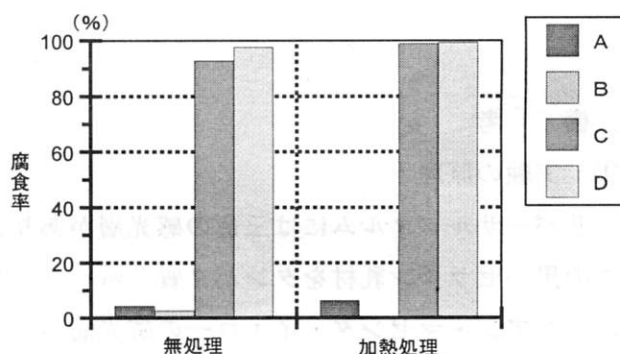


図10 加熱処理の有無と腐食率

5. まとめ

野外での枯草菌の生息場所・活性についての調査は、様々な環境要因が絡み、一概に言えないことがわかる。しかし今回の実験により、枯草菌の活性が高まる条件がある程度判明した。当然といえば当然であるが、酵素活性が高くなる30～40℃(20℃・50℃等ではまだ実験していない

いため不明だが)ではよく活動する。また乾燥したところでは活動できず、水分がある程度以上必要である。土質はとくに選ばず、黒色土でも砂質でもよい。陽当たりについても、地表に存在している菌には影響があるかもしないが、あまり考慮する必要はなさそうである。

一般にバクテリアは「暗く」て「じめじめ」したところで、「腐ったものがある」ような場所にいるというイメージを持たれがちであるが、結果から陽当たりが良くても、砂地(今回の実験では量的には少なかったが)でもいることがわかる。日当たりの良い場所は、地温が上がりやすく、寒い時期などにはかえって分解量が多いことが推測できるから、「暗く」はあてはまらないかもしれない。しかし、降水などによる影響が多であることが、実験ⅠのDはほとんど腐食されていないが、Ⅱ～Ⅴではよく腐食されていることや、同じくAもD程ではないが似たような結果になっていることから読み取れる。したがって「じめじめ」したところにいると考えることは、妥当かもしれない。ただ、乾燥しているからといっていないわけではないことが、AやDの結果から読み取れる。「腐ったものがある」を「有機質がある」と考えれば、CとDでの実験Ⅱ～Ⅴの結果から納得ができそうである。ただし熱帯などを考えた場合、有機質を全て分解してしまった場所にはいなくなるわけではないことから、これも全て正しいわけではない。

以上から、岐阜県で分解者が多いところを探すには、雨が当たり、地温が高い(一般には日当たりが良いところ)場所で、あまり乾燥していない場所、できれば有機質のある場所を探せば良いということになりそうである。

6. 備 考

① 実験の原理

リバーサルフィルムには三色の感光層があり、それらはゼラチンの乳剤に埋め込まれている。この黒いゼラチン乳材をタンパク質分解バクテリアが腐食すると、この黒いゼラチン乳剤層が溶け、シアン・マゼンダ・イエローの感光層が見えるようになったり、透明になったりする。これを利用してタンパク質分解バクテリアの存在とその活性を調べようというわけである。

② 腐食率について

腐食率(%) = 腐食された面積 ÷ 全面積 × 100

黒でなくなった場所は、腐食されたと判断した

7. 参考文献

須永智「生態系の分解者の存在とその活動を調べる生徒実験法」、『日本生物教育界第43回全国大会群馬大会要項(253-260、群馬大会事務局)』、1988年