

大貫谷公園における土壤微生物群集

－ 深さの違いによる微生物群集構造の相違 －



実施担当者 星槎高等学校
教諭 垣内 麻由美

1 はじめに

横浜市旭区に位置する大貫谷公園は、周辺住民の努力もあって200年ほど前から手つかずの土壤が保存されている。そのため、大貫谷公園に生息している微生物群集は、土壤本来の微生物叢を保持しているであろうと考えられる。これまで土壤微生物に関する報告は細菌に関するものが中心で、病原微生物や、根圏微生物以外の土壤本来の顕微鏡サイズの微生物群集に関するものは少ない^{5, 7)}。特に原生生物を中心とした50~500 μm の大きさの微生物の動態に関する報告は少なく、現在これらの進化系統関係が注目されていることから重要な課題といえる。

土壤固有の微生物が存在するのであろうか？また、どのくらいの深さまで微生物が存在しているのだろうか？に関して基礎的な調査が必要であると考え、7年前から土壤中の50~500 μm の顕微鏡サイズの真核微生物の調査・観察を行ってきた。その間、日本微生物生態学会における高校生ポスター発表として、第33回大会（山梨）において14種類の微生物の動態から、表層の土壤に生息する微生物はそこに生息する上層の生きものの影響を受けているが、20cmの深さの土壤の微生物はその影響が少ないことを報告した。また、第34回大会（新潟）では観察したスケッチの一部を示し、C地点の0-20cmの試料に観られた微生物の種類数は、80-100cmの試料に観られたものより多いこと、特にD地点においては、80-100cmの深さの土壤からこれまで観たことのない形態の動いている微生物を観察したことを報告した。さらに、土壤中の顕微鏡サイズの微生物数は、土壤1gに対して 10^9-10^{10} 個であると計算されたことも報告した。また、土壤に水を加えて20 $^{\circ}\text{C}$ で60日以上培養した試料で、これまでに観察したことのない種類の微生物が見いだされ、これらは孢子あるいはシストのような形態で地下に存在していたものが発芽したと考えられた。地下80cmの深さの土壤試料から生き物が見いだされたことの意義は大きい。この深さの違いによる土壤微生物の分布に興味を持ち、2022年3月24日にD地点・B地点・C地点の3地点において、深さ100cmまでの土壤を採取、観察した結果を報告する。

2 本年度の研究結果

2-1 採取地点の概況

国土地理院地図にD, B, C地点を示した。当日の気温はD地点8.0 $^{\circ}\text{C}$ 、B地点11.1 $^{\circ}\text{C}$ 、C地点11.8 $^{\circ}\text{C}$ で、地温はD地点8.0 $^{\circ}\text{C}$ 、B地点1.1 $^{\circ}\text{C}$ 、C地点9.7 $^{\circ}\text{C}$ であった。



2-2 土壌の採取

長谷川式検土杖を用いて2022年3月24日午後に山頂のD地点(標高92.5m)、沢の地形を示すB地点(82m)、グラウンドに面した陽が当たるC地点(75m)の順に各2カ所の土壌を、リター層を除いて深さ100cmまで採取した。2カ所の試料を合わせて20cm毎に区切り、ジップロックに回収して冷蔵庫で保管した



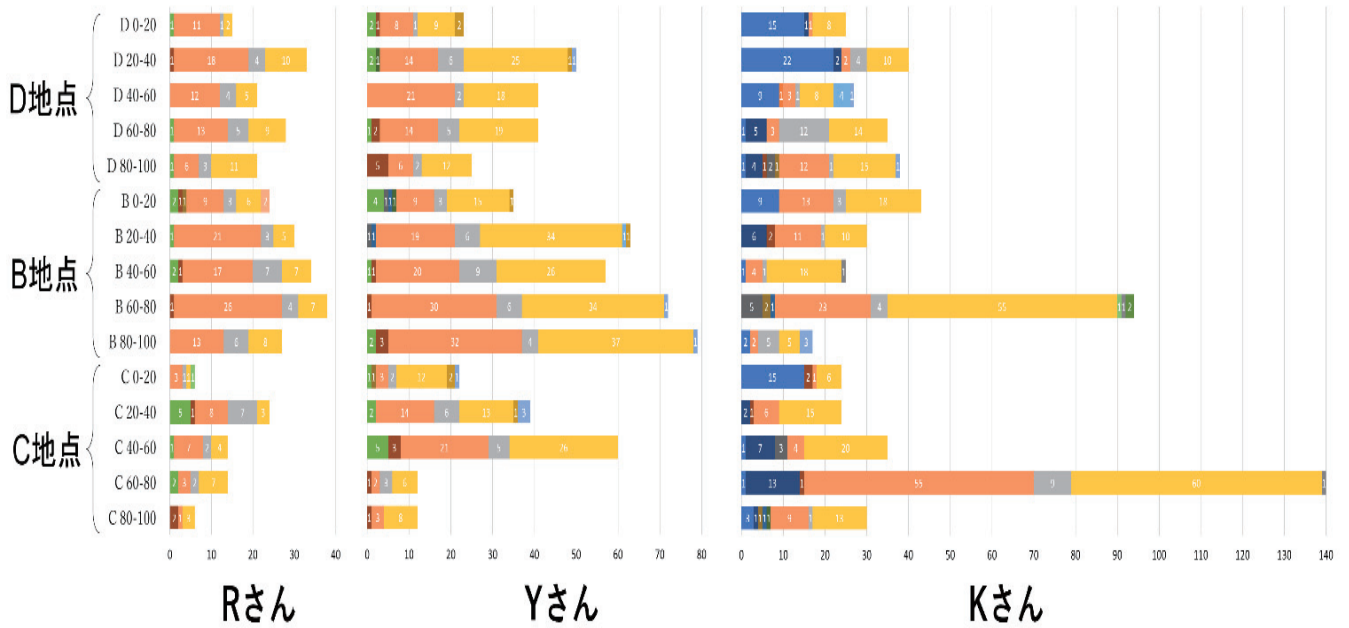
2-3 微生物観察

培養することによって生きている微生物が増えると考え、15°Cで7~10日間培養して計数した。培養にはエッペンドルフチューブを用いて土壌試料0.1mlを取り、市販のペットボトルの水を1mlになるまで加えた。これを手で上下に20回攪拌して2分間静置後、沈殿した土壌の直上の試料20 μ lをスライドグラスに取り、顕微鏡(オリンパスCH-23)で全体を観察した。結果は共通の計数表に記入したが、いずれとも合致しないものはスケッチして数を記入した。計数は当日と7~10日間15°Cで培養したものに関して、同一試料について2回計数したが、グラフには7~10日培養した結果を示した。土壌には不溶性の不均一な粒子が多数存在し、初めて計数を行う生徒にとっては微生物の判定が難しかった。そこで同定に際しては、これまでに撮り貯めた顕微鏡写真に番号をつけ、観察個体と比較・計数する方法を用い、一致するものがない形態のものはスケッチして計数した。

2-4 結果

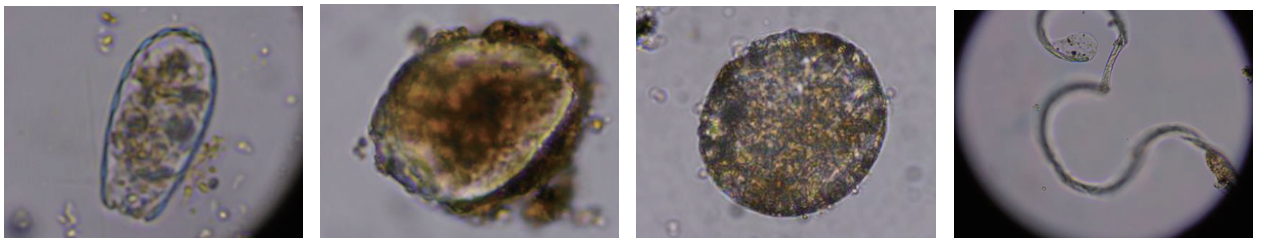
すべての計数値がそろった3名の結果をグラフに示した。⁹⁾

- | | | | | | |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|------------|
| ■ フクロワムシ | ■ カメノコウワムシ | ■ ネズミワムシ | ■ ドロワムシ | ■ ツボワムシ | ■ チビワムシ |
| ■ ナベカムリ1 | ■ ナベカムリ2 | ■ ツボカムリ1 | ■ ツボカムリ2 | ■ フセツボカムリ1 | ■ フセツボカムリ2 |
| ■ ウロコカムリ | ■ スナカラムシ1 | ■ スナカラムシ2 | ■ スナカラムシ3 | ■ アメーバ | ■ サッカアメーバ |
| ■ マヨネラ | ■ テカアメーバ | ■ ボド | ■ ペンモウチュウ | ■ ゾウリムシ | ■ テトラヒメナ |
| ■ 珪藻 | ■ その他 | ■ 食パン | | | |



3 まとめ

今回観察したいずれの地点においても、表層から20cmの試料で種類数が多い傾向にあったが、差は顕著ではなかった。また地下80-100cmの試料に、透明の微生物が観られたことは興味深い。



試料に水を加えて7日～10日間15℃で培養した試料をつまようじ法と比較すると、これまでに見られなかった動き回る生きものが見られたことから(未発表)、今回得られた結果は土壤に生息している真核微生物が休眠状態あるいはシストで存在しているものがあることを示唆している。それには、数種類のアメーバが含まれていた。また、観察されたナベカムリやツボカムリは表面に土壤粒子をまとっているものが多く、土壤粒子との判別が難しかった。しかし、調査した3地点間における微生物種類・個体数には一定の傾向は見られなかった。計数者による熟練度合いや判別能力を考慮しても、今回の結果は地下100cmまでは同じような微生物種がランダムに生息しており、土壤の真核微生物の分布は均質ではなくパッチ状であると考えられた。なお、これまでの報告でスナカラムシとした個体はいずれの試料からも高頻度で検出されたが、計数者による判定基準からグラフの形は異なった。土壤に生息している真核微生物の動態に関してはさらに顕微鏡観察を続けることが重要であると同時に、形態だけでは生き物であるか否かが解らない個体の同定が必要である。

【謝辞】

本研究の一部は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の助成金により行われました。ここに報告致しまして御礼申し上げます。なお、本研究は星槎大学森川和子特任教授のご指導と支援のもとに行われました。ここに報告致します。

【参考文献】

- 1) 「原生動物図鑑」 猪木正三著 講談社サイエンティフィック 1981
- 2) 「日本淡水産動植物プランクトン図鑑」 田中正明著 名古屋大学出版会 2002
- 3) 「やさしい日本の淡水プランクトン 図解ハンドブック」 滋賀の理科教材研究委員会編 合同出版 2005
- 4) 「土壤の原生生物・線虫群集」 日本土壤肥料学会編 博友社 2009
- 5) 「微生物生態学への招待」 二井一禎・武井裕子・山崎理正編 京都大学出版会 2012
- 6) 「プランクトンハンドブック」 中山剛・山口晴代著 文一総合出版 2018
- 7) 「土壤微生物学」 豊田剛己編 朝倉書店 2018
- 8) 高校生ポスター発表 第34回日本微生物生態学会 (新潟) 2021
- 9) 高校性ポスター発表 第35回日本微生物生態学会 (札幌) 2022

以上