

B-5 枯草菌優占化余剰汚泥とバーク等を原料とした 土壌改良資材中の線虫の挙動

○中里 恵理奈^{1*}・青井 透²

¹群馬工業高等専門学校・専攻科環境工学専攻（〒371-0845群馬県前橋市鳥羽町580）

*E-mail:aoi@cvt.gunma-ct.ac.jp

²群馬工業高等専門学校環境都市工学科（〒371-0845群馬県前橋市鳥羽町580）

1. はじめに

同じ種または同じ科の作物を同じ場所で育て続けると、その場所での土壌生態系に偏りが生じ、農作業者は連作障害で悩まされる。連作障害の対処方法として、主に臭化メチルやクロロピクリンのような土壌薰蒸剤による土壌薰蒸が行われている。しかし、土壌薰蒸剤は土壌生態系の破壊や農作業者の健康被害を引き起こす危険性がある。

連作障害の別の対処方法として、本研究室では枯草菌（*Bacillus subtilis*）と自活性線虫を用いる方法を考案した。枯草菌は土壌中の代表的なバチルス属細菌であり、生存環境悪化時に芽胞を形成して生き延びる性質をもつ。東京工業大学資源化学研究室の正田誠名誉教授は、土壌中に枯草菌が乾燥質量1gあたり 10^7 個以上存在すれば、カビによる連作障害を抑止できる¹⁾としている。一方、自活性線虫は体長0.2～1mm、無色透明の線形動物であり、海底、湖底、陸上に問わず、様々な環境で生息している。自活性線虫の食性については、顕微鏡で線虫の口形を観察することで予測できる。菌食性線虫であればカビによる連作障害を、捕食性線虫であれば植物寄生性線虫による連作障害を、雑食性線虫であればカビと植物寄生性線虫の両者による連作障害を抑制できることが期待できる。さらに、菌食性線虫は植物根圏域に密集する傾向があり、結果として植物の根に寄生する習性をもつ植物寄生性線虫の根接近を阻害する²⁾といわれている。

昨年の研究では、群馬県利根郡みなかみ町にある資源リサイクルセンター（写真1）で製造している土壌改良資材中の枯草菌と自活性線虫を測定した。この土壌改良資材は枯草菌が優占化したし尿処理施設由来の脱水汚泥とバークを原料としており、多数の枯草菌と自活性線虫を含んでいることが分かった。しかし、土壌改良資材中のバークの径が大きく

サンプリングにばらつきがあったため、良好な測定結果が得られなかった。そこで本研究では、粒径が小さなバークと脱水汚泥を用いた土壌改良資材を実験室内の生ゴミ処理機で試作した。その際、枯草菌を含めたバチルス属細菌および自活性線虫の数を測定し、生ゴミ処理機運転時間による変化を調査した。バチルス属細菌については過去の研究結果より、醗酵温度が10～40℃程度であれば常に 10^7 個/g以上存在することが分かっているため、本発表では自活性線虫の挙動についてのみ報告する。



写真1 資源リサイクルセンターの写真
（脱水汚泥搬入時）

2. 研究対象

本研究では、バーク、脱水汚泥の他に、群馬高専敷地内にあるため池から得られた底泥（以下、西湖底泥と記す）と米糠を土壌改良資材の原料とした。バークは上記の資源リサイクルセンターから、脱水汚泥は奥利根アメニティーパークし尿処理施設から受領し、土壌改良資材の試作を2012年6月4日から生ゴミ処理機A、B、C（写真2）の3台を用いて行った。その配合比を表-1に示す。本試作を行なう前に同様の原料を使用して試作を行なったところ、原料



写真2 土壤改良資材試作の際に使用した生ゴミ処理機

表-1 各土壤改良資材の配合比(乾燥質量)

生ゴミ処理機	パーク	米糠	西湖底泥	脱水汚泥
A	6	0	3	1
B	4	2	3	1
C	4	2	2	2

の配合比によるバチルス属細菌および自活性線虫の数の差は生じないこと、米糠を投入することにより生ゴミ処理機の醗酵温度が上昇し、自活性線虫が増殖することが分かった。そこで、本試作では有機物の原料(パークと米糠)と無機物の原料(西湖底泥と脱水汚泥)の配合比を6:4とし、米糠の有無および脱水汚泥の量による自活性線虫頭数の違いを調査した。

3. 実験手順

(1) 自活性線虫の抽出

自活性線虫の抽出を行なうため、生ゴミ処理機運転開始から17日後までは毎日、それ以降は週2~3回

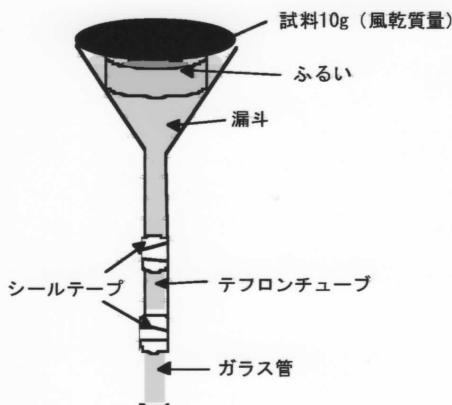


図-1 ペルマン法に基づく線虫抽出装置

の頻度で各生ゴミ処理機から土壤改良資材を試料として採取した。

線虫の抽出にはペルマン法³⁾を用いた。その抽出装置を図-1に示す。漏斗、テフロンチューブ、ガラス管をシールテープで固定し、中を蒸留水で満たした。キムワイプを挟んだふるいに各試料10g(風乾質量)を計量して入れ、これを漏斗の中に設置した。蒸留水の蒸発防止のため、漏斗上部をパラフィルムで蓋をし、室温、24時間、実験室内で抽出を行った。

(2) 自活性線虫の頭数測定・観察

自活性線虫を抽出後、抽出装置からガラス管を取り出し、上澄みを除去した。これを60℃の湯の中に50秒間入れて自活性線虫を熱殺した後、抽出物をスライドガラスに移し、光学顕微鏡で自活性線虫頭数を測定した。測定後、自活性線虫の口形を観察し、記録した。

4. 結果と考察

(1) 自活性線虫の口形

得られた自活性線虫の口形(写真3)を観察し文献のもの(図-2)と比較したところ、試作した土壤改良資材に含まれている自活性線虫は菌食性あるいは細菌食性であることが分かった。このことから、この自活性線虫を増殖させることでカビによる

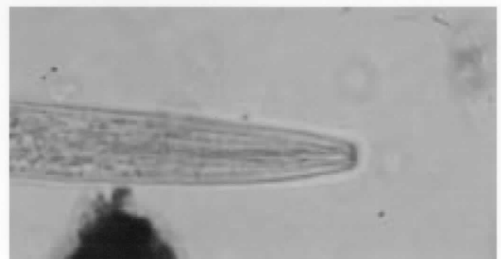


写真3 自活性線虫の口形

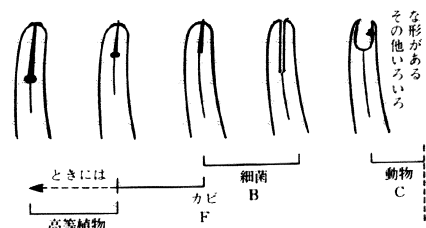


図-2 口部の形状と線虫の食性

出典：三枝俊郎著『センチウ おもしろ生態とかしい防ぎ方』

連作障害の抑止, さらには植物寄生性線虫による連作障害の抑止が期待できる。

(2) 生ゴミ処理機内の自活性線虫頭数

米糠が含まれていない土壌改良資材（生ゴミ処理機A）中の醗酵温度はほぼ一定であり，自活性線虫は1000～5000頭/10gの間で増減を繰り返した（図-3）．試作開始から4週間後以降は自活性線虫の頭数が急激に減少し，増殖は確認できなかった．試作中には水道水の供給はしたが原料の供給はしなかったため，自活性線虫は原料の中に含まれる餌が不足したために減少したと考えられる．このとき，バチルスコロニー数は 10^7 個/g程度であったため，この自活性線虫はバチルス属細菌以外の菌を食していたことが予測できる．この結果から，連作障害の抑止に期待できる土壌改良資材は試作開始2～3週間後のものであるといえる。

米糠が含まれている土壌改良資材（生ゴミ処理機B, C）中の醗酵温度は開始直後に50℃前後にまで上昇し，数日後に30℃前後に減少した（図-4）．しかし，自活性線虫頭数は温度低下後も数10頭/10gしか測定できなかった。

脱水汚泥の量による自活性線虫頭数の違い（生ゴミ処理機B, C）については確認できなかった。

本試作の前に行なった試作実験では，米糠投入を投入して数日後に自活性線虫が数万頭/10gに増殖した（図-5）．この場合，米糠投入前に自活性線虫がある程度増殖し生ゴミ処理機内に分散したため，温度上昇による影響を受けなかった自活性線虫が温度低下後に増殖した可能性がある．本試作では，自活性線虫が増殖・分散する前に温度が上昇したため，温度低下後に増殖しなかったと考えられる．よって，米糠の投入は生ゴミ処理機をある程度運転させてから行なったほうがよいと思われる。

4. まとめ

生ゴミ処理機内の自活性線虫の頭数は増減を繰り返す，その数は自活性線虫の餌に依存している可能性がある．米糠を投入することで土壌改良資材の醗酵温度が上昇し，自活性線虫を増殖させることができるが，それは生ゴミ処理機をある程度動かし，自活性線虫を分散させてから行なったほうがよい．今後も米糠の投入時期による自活性線虫の挙動や，自活性線虫に対する脱水汚泥の影響について調査する予定である。

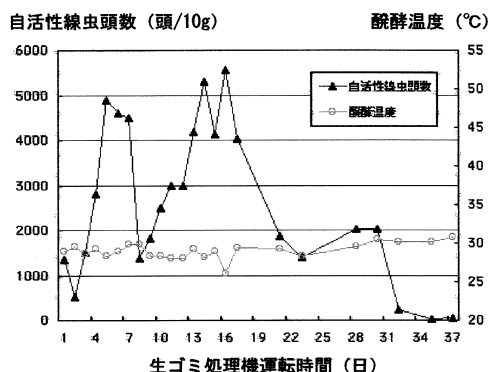


図-3 自活性線虫頭数と醗酵温度の推移 (A)

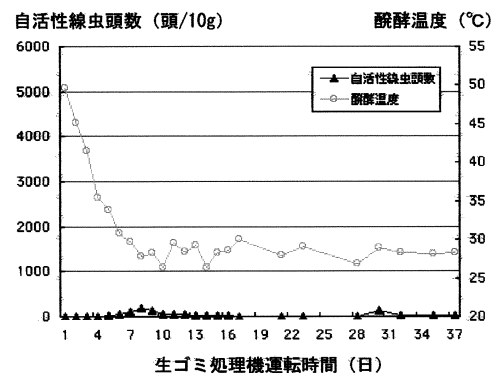


図-4 自活性線虫頭数と醗酵温度の推移 (B, C)

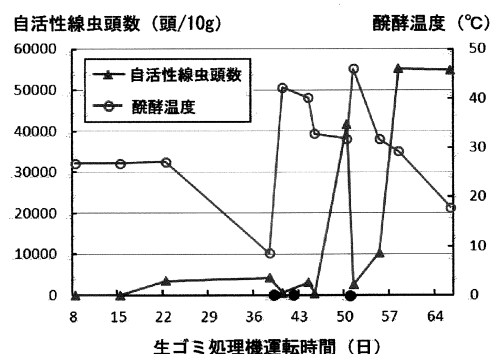


図-5 自活性線虫頭数と醗酵温度の推移 (前実験)
(●: 米糠投入日)

参考文献

- 1) Orie Asaka, Takashi Ano and Makoto Shoda (1996) Persistence of *Bacillus subtilis* RB14 and Its Derivative Strains in Soil with Respect to *lpa-14* Gene, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, vol 81, No. 1, 1-6.
- 2) 石橋信義 (2003) 線虫の生物学, 東京大学出版会, pp. 43-44, 84-88
- 3) 線虫学実験法編集委員会 (2004) 線虫学実験法, 日本線虫学会, pp. 87-88
- 4) 三枝敏郎 (1993) センチュウ おもしろ生態とかしい防ぎ方, 農文協, pp. 18-22
- 5) 中里恵理奈, 青井透 (2012) 枯草菌優占化余剰汚泥とパーク等を原料とした自活性線虫の多い土壌改良資材の試作, 第49回下水道研究発表会講演集, pp. 34-36