

氏名	金子 貴 徳
学位 (専攻分野の名称)	博士 (学術)
学位記番号	甲 第 0012 号
学位授与の日付	令和 3 年 3 月 20 日
学位論文題目	Megascolecidae ミミズが土壤環境に及ぼす影響に関する研究
論文審査委員	主査 教授・博士 (農学) 藤川 智 紀 教授・博士 (農学) 三原 真智人 教授・博士 (農学) 横田 健 治 准教授・博士 (農学) 中島 亨

論文内容の要旨

第 1 章 研究背景と目的

近年, 農業の生産性を高めるために, 化学肥料の使用が増加傾向である (FAOSTAT, 2019) が, 過度の化学肥料の使用によって, 土壤微生物や土壤動物の減少や死滅 (Bagyaraj and Patil, 1975; Wessen *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2014), 土壤の物理性や化学性の低下 (Batey, 2009; Jaffar and Behzad, 2016; Chandini *et al.*, 2019) する危険性が指摘されている。今後も化学肥料の多投が続くと, 土壤環境の生態系が崩壊することが危惧される。一方, 土壤動物は有機物の粉碎や土壤と有機物の混合により, 土壤養分の蓄積や腐植形成などの土壤環境の変化が現れる。土壤環境の変化によって, 動植物の増減や作物成長の促進などの有能な働きを有するものが多く, 中でもミミズは生息する面積当たりの生重量が最も大きい種の一つであることから土壤の理化学性への影響が大きいと考えられる。ミミズは一般的に土壤中で目視ができる大型ミミズ類と目視できない小型ミミズ類に分類される。特に大型ミミズ類は活動量も大きく, 土壤の理化学性に与える影響が大きいと予想される。この大型ミミズ類は大きく 2 つの科, ヨーロッパなどの冷帯から温帯などの広く地域に分布するツリミミズ科 (Lumbriculidae) と, 東南アジアやオーストラリア, ニュージーランド, 日本, インドなどの温帯地域に分布するフトミミズ科 (Megascolecidae) に分類される。ミミズ研究が盛んなヨーロッパでは一般的にツリミミズ科をミミズと指す。日本に生息するミミズ相の 95% はフトミミズ科であり, 約 8 科 134 種以上生息していると言われている。ミミズの生活型は, 生息層位や形態, 食性などを基に分けられ, ミミズの分類際にも必要となる。最も一般的に用いられているは, Bouché (1977) が提案しているツリミミズ科の表層性種, 地中性種, 表層採食地中性種の 3 つ生活型である。日本のフトミミズ科の生活型は表層種, 浅層種, 深層種に分けられ, 色や環帯, 剛毛などの外部形態ではなく, 腸盲嚢や生殖腺などの内部形態との関係性があることが分かっている (石塚, 2001)。また, フトミミズ科の表層種, 浅層種, 深層種は, それぞ

れツリミミズ科の表層性種，地中性種，表層採食地中性種に対応するのでないかと考えられている。しかし，外部形態や内部形態の変異も多いので，分類だけではなく，生活型の分類も海外に比べて進んでいない。土壤理化学性の観点から見ると，ミミズは，摂食・排泄・移動の 3 つの働きを持っており，理化学的性質に対して様々な影響をもたらす。摂食では，ミミズより有機物は粉碎される (Wall and Moore, 1993)。さらに腸内で共生する微生物により分解される (Lavelle *et al.*, 1997)。排泄では，排泄後の糞中の有機物は微生物により分解され，さらに土壤養分が増加される (Darwin, 1881; Joachim & Kandiah, 1940; 佐々木ら, 1994; 松本, 1977)。移動では，坑道による土壤改変や有機物の地下への移動により，土壤の物理構造の変化 (Jones, 1994) や植物の根の成長に影響する (Langmaack *et al.*, 1999; 伊藤ら, 2001; Kavdir and Ilay, 2011)。

このように，国内外において，糞と周辺土壤の土壤養分濃度の違いや糞内の微生物活性の上昇，ミミズの移動による間隙構造の変化が確認され，またこれらの作用による作物生育の促進効果についての研究が進められている。しかし，土壤環境や気候，植生などの条件によって，農地に生息するミミズの密度は一定ではないことや土壤中を動き回っていることで現場の把握が難しいことから，摂食・排泄・移動の各要素が土壤環境に対してどのような影響を与えるのかが十分に解明されていない。本研究ではミミズの密度 (匹数) をパラメータとして，ミミズの摂食・排泄・移動の活動が土壤の土壤養分濃度の変化量や変化速度，さらに作物成長に対してどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。

第 2 章 フトミミズ科が排泄する糞の成分

フトミミズ科の糞の特性や糞量を明らかにするために培養試験を行った。実験では，十分に洗浄した後に 24 時間ビーカー内に入れ，消化器官内に含まれている餌や糞を排泄させたフトミミズ科を，土壤を入れたビーカーに入れ，再度 24 時間培養した。培養後，土壤からミミズを取り出し，体外をもう一度洗浄した後，ビーカー内で 24 時間もしくは 48 時間静置し，ビーカー内に排泄された糞の質量および可給態リン酸，硝酸態窒素濃度を測定した。なお，今回の実験では糞や尿，粘液の区別が難しいので排泄物を全て糞とした。実験で用いたフトミミズ科は，神奈川県川崎市の果樹地の地表面から 10 cm 深に生息しているものを採取した。土壤試料はミミズを採取した農地と同じ神奈川県川崎市の果樹地の地表面から 10 cm 深から採取し，2 mm 通過分を実験に使用した。培養温度は，採取地の年平均気温 $17.1\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (横浜市, 2018 年) に設定した。分析項目は糞量，可給態リン酸 (Trouw method)，硝酸態窒素 (Cataldo method) である。

その結果，生重量と糞量には排泄時間に関係なく，正の相関が認められた。フトミミズ科の種でほぼ体重に比例した排泄量であること (Watanabe, 1975) が報告されており，本実験でも同様の比例関係が示された。また，排泄時間が異なっても比例関係が示さ，24 時間で

生重量の約 36%の糞量, 48 時間で約 65%の糞量が排泄されることが確認された。既往の研究で報告されているミミズの腸内における餌の滞留時間の 2~20 時間程度 (Brown, 1995) と比較すると, 本実験でも同様の滞留時間もしくはさらに長い滞留時間ではないかと推察された。24 時間で排泄された糞に含まれる栄養成分の濃度を元の土壌と比較すると, 可給態リン酸が 0.23 mg/g (元の土壌の 6 倍), 硝酸態窒素が 1.89 mg/g (945 倍) と高くなった。このことから, ミミズの摂食によりリンと窒素に対する無機化の能力が上昇することが示唆された。リンについては, ミミズの体内や糞内に共生する土壌酵素の一つであるホスファターゼの働きで難溶性リン酸から可溶性リン酸に変化すること (Satchell and Martin, 1984; 宮崎, 2010) が, また窒素に関してはミミズの腸内に共生する細菌により窒素の無機化や硝化反応が行われていたこと (蘇ら, 2017) が理由として考えられる。可給態リン酸と硝酸態窒素を比較すると, 硝酸態窒素の濃度の上昇が可給態リン酸の濃度上昇よりも大きくなった。ビーカー内にミミズを 48 時間静置した場合, 可給態リン酸が 0.23 mg/g (6 倍), 硝酸態窒素が 1.84 mg/g (元の土壌の 920 倍) と高くなった。

このことから, ミミズの摂食および排泄作用により, フトミミズ科の糞は元の土壌より可給態リン酸, 硝酸態窒素ともに濃度が高くなることが明らかになった。

第 3 章 フトミミズ科による土壌養分と団粒構造の変化

フトミミズ科の土壌中での動きや糞が土壌の理化学性や団粒構造の変化に各層で生じているかを明らかにするために土壌カラムを用いた培養実験を行った。実験では, 内径 15 cm (断面積 1/5,555 a), 高さ 2 cm のアクリルリングを積み重ねたカラムに, 土壌を深さ 12 cm まで充填し, そこにミミズを入れた。ミミズの投入後 28 日間放置した後, 表層より 0~4 cm, 4~8 cm, 8~12 cm の 3 つの層に分け土壌を採取し, 土壌養分および耐水性団粒に関する分析を行った。投入したミミズは 0, 3, 10 匹 (0, 167, 555 匹/m²) であり, それぞれ EI, EII, EIII と表した。実験で用いたフトミミズ科および土壌は, 第 2 章と同じ採取地から採取した。分析項目は可給態リン酸 (Trouw method), 硝酸態窒素 (Cataldo method), 耐水性団粒 (Yoder method) である。

その結果, 今回実験に用いたミミズは, どの時点でも密度に関係なく, 4~8 cm と 8~12 cm の層に多く生息しており, 今回の実験条件では, フトミミズ科は表層部よりも下層部で活動することが確認された。土壌分析の結果, 28 日後に採取した EIII (10 匹) 区の可給態リン酸濃度は, 表層より, 10 mg/100 g (0~4 cm), 13 mg/100 g (4~8 cm), 18 mg/100 g (8~12 cm) になり, ミミズの活動が活発な深い層ほど濃度が高くなっていることが示された。ミミズの有無 (0 匹と 10 匹) で比較すると, 1.2 倍 (0~4 cm), 1.7 倍 (4~8 cm), 2.2 倍 (8~12 cm) に上昇し, さらに EII (3 匹) より EIII (10 匹) の濃度の方が高かった。また硝酸態窒素濃度は, 11 mg/100 g (0~4 cm), 12 mg/100 g (4~8 cm), 9 mg/100 g (8~12 cm)

になった。硝酸態窒素もミミズの有無（0匹と10匹）で比較すると、1.9倍（0～4 cm）、2.5倍（4～8 cm）、2.0倍（8～12 cm）に上昇し、さらにEII（3匹）よりEIII（10匹）の濃度の方が高くなる傾向を示した。可給態リン酸とは異なり、上層部ほど硝酸態窒素濃度が高い傾向となった。ミミズの生息域において土壤中の細菌による硝酸の生成が活性化しているだけでなく、硝化菌は好気性微生物のため、好気条件である上層部において活性が高く、硝酸態窒素が高濃度になったと推測される。耐水性団粒の分析結果からは、表層部においても団粒化が進んでいることが確認されており、団粒化の促進により、特に表層では大きな間隙が生成され、排水性が上がることで気相率が高まり、好気的な環境が生成されやすくなることで硝化菌の活性がより高められた可能性もある。

このことから、ミミズの移動作用によって、下層部で活動することで土壤中に坑道を形成し、摂食および排泄作用により、土壤中に糞を排泄し、可給態リン酸や硝酸態窒素、耐水性団粒の濃度が高くなることや粒径割合の変化が明らかになった。また、本章のカラム実験の結果と、第3章のミミズによる土壌養分の増加量を用いて、土壌養分の増加がミミズの摂食や排泄作用による糞由来の土壌養分の割合を計算した。その結果、可給態リン酸は10～20%、硝酸態窒素は数値の幅が大きく80～200%が糞由来の成分であることが推測された。可給態リン酸については、糞として土壤中に排泄された有機物が土壌微生物により分解され、可給態リン酸量が増加するのに対し、硝酸態窒素は水分による移動が容易のため、下方へ溶脱したり、下層部が還元状態だったためにアンモニアに変化、さらには有機態窒素への窒素固定が生じたりしていた可能性が考えられる。

第4章 フトミミズ科が作物生長に与える影響

フトミミズ科を入れて培養した土壌で作物を栽培した際にどのような影響が起こるのかを解明するための栽培試験を実施した。1/5,000 aのワグネルポットに土壌を充填し、ミミズと化成肥料を入れて14日間培養した。培養後、コマツナを播種して栽培を行った。実験で用いたフトミミズ科および土壌は、第2、3章と同様の採取地から採取し、ミミズの密度の条件については第3章と同様である。化学肥料は8:8:8の化成肥料を用いた。分析項目は作物の生重量および乾物重量である。各条件下で3反復のポットで実験を行った。

その結果、ミミズの密度が高くなるにつれて、作物の生重量および乾物重量が重くなり、大きくなる傾向が示された。ミミズ区で収穫したコマツナの重量を化成肥料区の重量と比較した結果、EII（3匹）は化成肥料の施肥量の0.18 gに相当し、EIII（10匹）は化成肥料の施肥量の1.0 gに相当することが分かり、化成肥料の施肥量を約1/8～1/2ぐらいまでの抑制できると示唆された。これらのことから、ミミズの動きや糞の働きで作物成長を促進させ、化学肥料量も抑制することが可能性であることが示された。

第5章 総括

フトミミズ科から排泄された糞は元の土壌より、可給態リン酸や硝酸態窒素濃度が大きく上昇させた。また土壌中において、可給態リン酸がミミズの活動する深い層において濃度上昇するのに対して、硝酸態窒素はより表層に近い部分で濃度が上昇した。また、ミミズの密度が高いほど、濃度上昇も促進された。ミミズの排泄物の可給態リン酸濃度および硝酸態窒素濃度と、土壌全体の可給態リン酸および硝酸態窒素の濃度上昇を比較したところ、可給態リン酸においては10~20%であるのに対して、硝酸態窒素については80~200%となり、特に硝酸態窒素においては、排泄後の土壌中微生物による変化が大きく影響することが示唆された。また栽培試験の結果からは、ミミズの摂食・排泄・移動の働きで、作物成長を促進することが分かった。さらに、ミミズの密度を管理することで、化学肥料の施肥量を抑制できる可能性が示唆された。以上のことから、日本に生息するフトミミズ科の摂食・排泄・移動の働きによって、土壌養分の上昇や団粒形成の促進させることが分かった。また、ミミズの働きによって作物成長を促進し、化学肥料の施肥量を抑制させることが示唆された。これらの働きをさらに、ミミズの密度を高めることで、その働きは促進されることが推察された。

今後の展望として、本研究でミミズの働きが他の微生物や酵素などの生物に影響や依存していることが分かり、これらの影響を把握することで、更なるミミズ働きの影響を調べることで土壌利用方法の検討や化学肥料の施肥量の抑制にも応用することができると考えられる。また、ミミズは土壌中を一定の所に留まらないので、どのような管理方法が適切なのかななどの議論も進めていく必要がある。

審査報告概要

本論文は日本に多く生息するフトミミズ科のミミズの活動が、農地の生産環境に関係する土壌中の肥料成分分布や作物生育について与える影響を明らかにしたものである。ミミズから排泄された糞はもとの土壌より可給態リン酸や硝酸態窒素濃度が高くなること、ミミズの活動による濃度上昇が可給態リン酸ではミミズが活動する深さ10 cm前後で生じるのに対して、硝酸態窒素はそれより浅い表層部で生じること、これらの濃度上昇がミミズの密度によって影響を受けること、ミミズの活動する深さを中心に耐水性団粒も増加することを明らかにした。またミミズが存在することでコマツナの生育が促進される効果を確認し、この効果を化学肥料の相当量として定量的に把握した。このように、本研究は土壌動物学、土壌肥料学、土壌物理学を横断する領域において土壌中のミミズの活動に関する新規性のある知見を多く得たことから、審査員一同は博士（学術）の学位を授与する価値があると判断した。