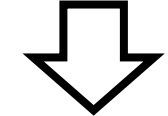


伊那谷のミミズと細菌の関係

1. 研究動機・目的

ミミズの祖先は4億年前に現れたと言われ、普段見かける身近な動物ではあるが生態や分類では未だ知られていないことも多い。昨年伊那北高校の課題研究発表会でミミズと土壌の研究を知った。

私たちはミミズの種類の多さや土壌に及ぼす影響に興味を持ち...



土壌細菌やミミズの腸内細菌に着目して調べよう! と思い立ち

仮説1

ミミズの腸内細菌と土壌の細菌は異なっているが、土壌細菌の中には腸内で共生している種がある

仮説2

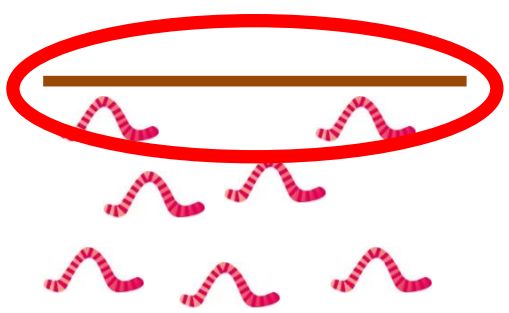
生息するミミズの種が違えば土壌に違いが生じ、これにはミミズの腸内細菌が関係している

という二つの仮説のもと、伊那谷のミミズの腸内細菌や土壌内細菌を調べた。

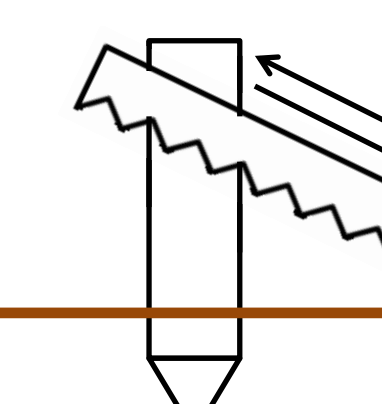
2. 調査・実験

ミミズの捕獲には、以下のような二つの方法でミミズを捕獲した。

ハンドソーティング法...土を手でより分けてミミズを探す方法

 表層種(地表近くにいる種類)を捕獲することができる。

(名称不明)...木の杭と凹凸に削った棒を用いる方法

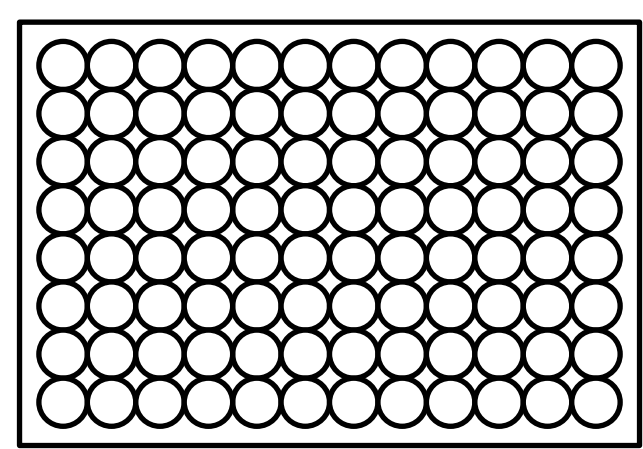
 木の杭を地面に打ち付けて凹凸に削った木の棒で擦り、起こした振動をミミズがモグラが起こしたものと勘違いして地面に出てくる(左図参照)。出てきたミミズを捕獲する。

ミミズと土壌は共に冷蔵庫(約5℃)で保管した。

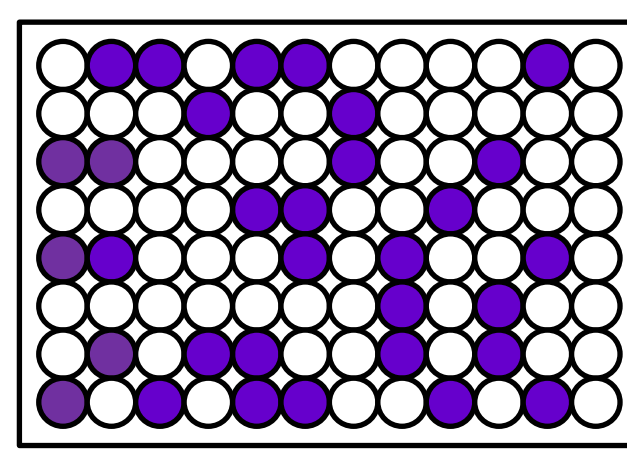
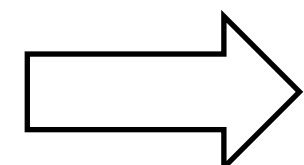
実験方法...**BIOLOG微生物分類システム**を用いた

BIOLOG微生物分類システムのマイクロプレートには、微生物や細菌の栄養源となる炭素源95種類と酸化還元反応試薬が各ウェルに充填されている。それらに、土壌内や腸内容物を溶かした液(懸濁液)を接種する。懸濁液内の細菌、微生物は一定時間培養すると呼吸などの代謝により炭素源を消費する。その時、酸化還元反応試薬が還元され、**紫色**に発色する(下図参照)

これをマイクロプレートリーダーにより波長590nmの吸光値を測定して発色の度合いを数値化して微生物や細菌群集全体としてサンプル間で比較する。吸収光が高いほど、その炭素源の消費が高いことを示す。



代謝による炭素源の消費



3. 結果

・今回捕獲したミミズ



シマミミズ



ノラクラミズ



セグロミミズ

シマミミズ...体長60~130mmの全国分布種。赤褐色で体節間溝は淡色であるため背面全体は縞模様となり縞が目立つ。また体節間溝や肛門付近は体腔液が透けて見え黄色を帯びる。

ノラクラミミズ...体長150~250mmの広域分布種。フトミミズ科の仲間では、第19体節に雄性孔をもつ唯一の種である。第17・18、20・21体節に吸盤状性徴をもつ。

セグロミミズ...体長:90~220mmの沖縄を除く全国分布種。全体がだいたい同じ太さであり細長い。受精囊孔域の吸盤状性徴の存在状態が特徴である。

長野県伊那北高校 2年理数科

研究者:松本佳紘・林元輝・井口槇

共同研究者:田中哲平さん(信州大学4年)

その他 井上研の皆さん

指導教諭:小野英範先生

協力:井上直人先生(信州大学農学部)

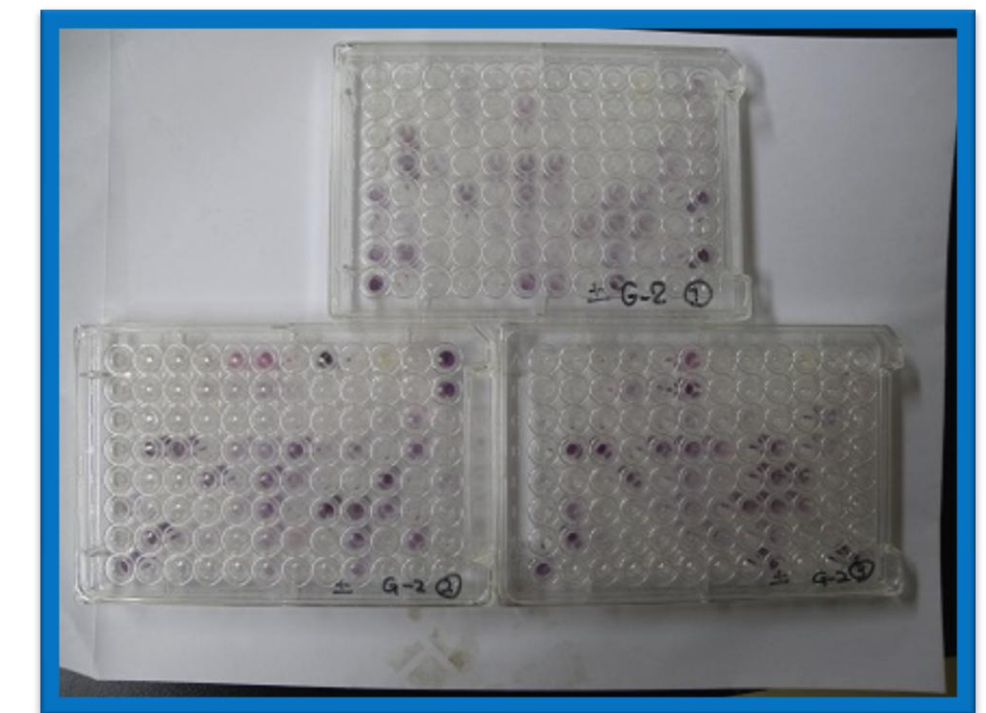
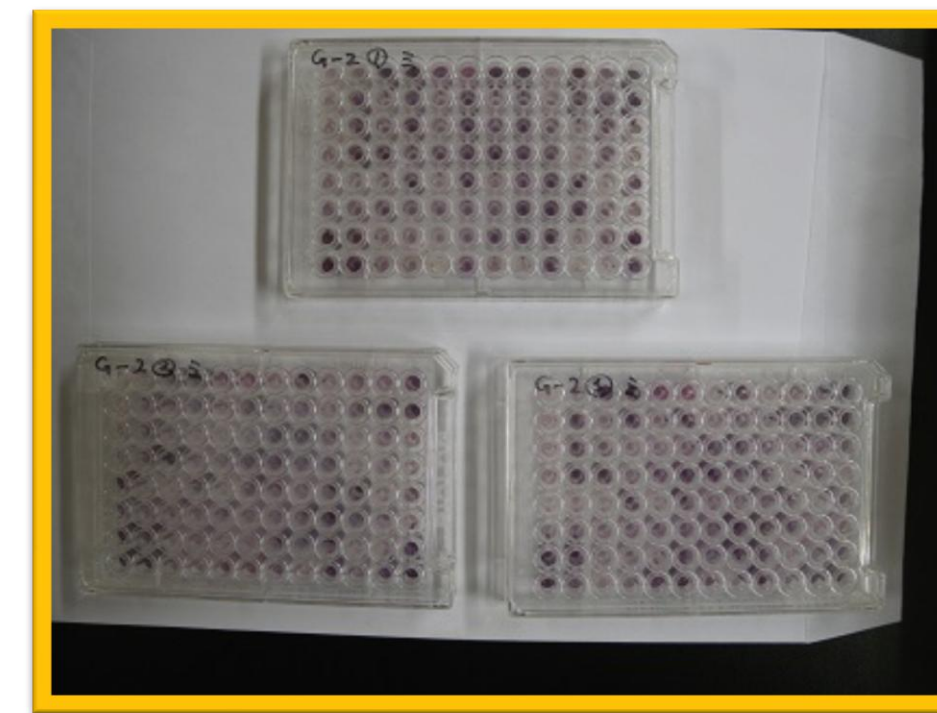
大屋悠里香先生

BIOLOGマイクロプレートの吸光値

同地点でのミミズの腸内容物と土壌の比較 (例:ノラクラミミズ)

ミミズ腸内容物

土壌細菌



以下のような特徴がみられた。

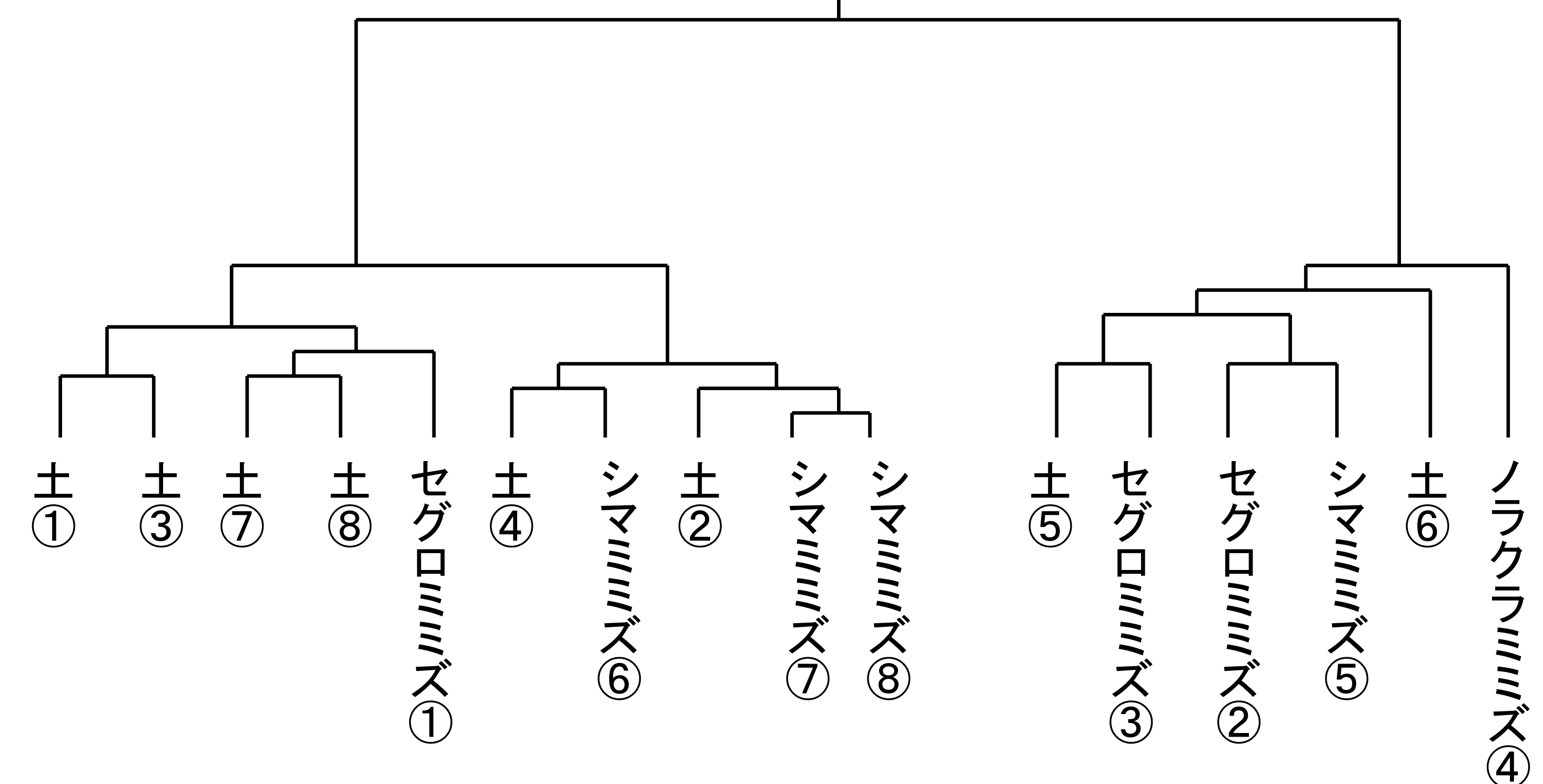
- ・土壌とミミズ腸内容物の両方で高い吸光値を示すもの
- ・土壌の方が高い吸光値を示すもの
- ・ミミズの腸内容物の方が高い吸光値を示すもの

ミミズ間での腸内容物の吸光値の比較



セグロミミズ1, 2ではおおよそグラフの左側でともに高い数値を示している一方、シマミミズでは低い数値を示していることがわかる。

4. まとめ・考察



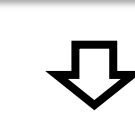
井上研究室の協力のもと系統樹を作成した。

例外はあるものの種ごとに固まっているように見ることができる。

また、同一地点のサンプルにおいて...

- 土壌懸濁液での発色は確認されず腸内容物懸濁液での発色が確認された炭素源
- 腸内容物懸濁液で発色は確認されず土壌懸濁液での発色が確認された炭素源
- 土壌と腸内で共通して発色が確認された炭素源があったことから

土壌のみ、腸内のみで生息する細菌が存在し、同時に土壌にいる細菌の中で腸内にも生息する細菌が存在する可能性がある



仮説1は可能性として考えられるが、今回の実験では細菌を集団として捉えていて、仮説を実証するには土壌に生息する細菌と腸内で生息する細菌を種のレベルで比較する必要があり、この仮説は正しいと断言することはできない。

- 中には種によらず発色レベルの高い炭素源
- 同じ種ごとでグラフの形状が類似している事や特定の種で共通して発色した炭素源があったことから

ミミズの腸内環境を形成する上で重要な細菌が存在し、同時に腸内細菌の中には種によるものとよらないものがある可能性がある



仮説2について、ミミズの腸内細菌の違いが土壌の違いに反映されていることも考えられる。しかしグラフから明確な関連性を認めることができず、二つ目の仮説を実証することはできなかった。