

カドマルエンマコガネによる牛糞分解と微生物相変化

横山, 和平
九州大学農学部土壌微生物学教室

甲斐, 秀昭
九州大学農学部土壌微生物学教室

河口, 定生
九州大学農学部土壌微生物学教室

<https://doi.org/10.15017/23331>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 44 (3), pp.119-128, 1990-02. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：



カドマルエンマコガネによる 牛糞分解と微生物相変化

横山 和平・甲斐 秀昭・河口 定生

九州大学農学部土壤微生物学教室

(1989年10月29日 受理)

Microbial Changes in Cow Dung Decomposed by *Onthophagus lenzii* Harold

KAZUHIRA YOKOYAMA, HIDEAKI KAI and SADA O KAWAGUCHI

Laboratory of Soil Microbiology and
Biochemistry, Faculty of Agriculture,
Kyushu University 46-02, Fukuoka 812

緒 言

土壌における有機物分解過程においては微生物が基本的な活性を担っているが、土壌動物はその活動を通じて、微小空間の化学的あるいは物理的環境を変化させ、微生物活性に影響を及ぼしている (Parkinson, 1983; Petersen and Luxton, 1982). Sr. Angel and Wicklow (1974) は、ウサギ糞塊の有機物のうち糞生菌に消費される部分は20-29%に過ぎず、残りは食糞性の節足動物や土壌動物、土壌微生物に消費されると推定した。食糞性昆虫の中で、食糞性コガネムシ群は放牧地において最も重要なグループのひとつであり、その中でも、食糞性のパラコプライド型のコガネムシ群は放牧地管理の観点から有効な生態学的要素として用いられてきた。これらの昆虫群による家畜糞の除去は糞中の養分の損失を減少させ、放牧地におけるそれら養分の循環及び植物生産を促進する (Bornemissza and Williams, 1970; Fincher, 1981)。しかしながら、牛糞内の微生物相や牛糞及び土壌中の微生物相の変化に及ぼすパラコプライド型の食糞性コガネムシの影響については不明である。加えて、パラコプライド型の食糞性コガネムシは産卵のために土壌中に糞球を形成する。この糞球中の微生物相については従来、研究されていない。この研究の目的は、パラコプライド型糞虫に作用された牛糞、糞球及び牛糞直下土壌の性状変化と微生物個体群の変動を明らかにすることである。

なお、本研究で用いたカドマルエンマコガネ (*Onthophagus lenzii* Harold) は西南暖地におけるパラコプ

ライド型糞虫の代表的な一種であり (笹山ら, 1984)、体長約 1 cm、生体重約100mg の中型種である。産卵期 (6月から8月)には、産卵とその後の幼虫の生育のために土壌中に糞球を形成する。

本文に先立ち、試料の採集にご便宜をいただいた九州大学農学部付属農場の職員の皆様、CN コーダーの使用を許していただいた畜産学科飼料学講座の皆様にご感謝いたします。

材料及び方法

1. カドマルエンマコガネの飼育

図1に示す様に、3種の処理区すなわち糞虫区、対照区及び無処理区を設けた。ここで用いた容器は透明なアクリル板製で、内寸20cm (長さ)×2 cm (幅)×15cm (高さ)である。3処理区とも深さ10cmまで土壌を詰めた。九州大学付属演習林内の放牧地より採取した新鮮牛糞を均一に混合し、その100gを糞虫区と対照区の土壌表面を覆うように設置した。上記放牧地にて採集後、実験室にて飼育したカドマルエンマコガネ2対を糞虫区の飼育容器に放飼した。容器の上部を1mmメッシュの寒冷紗で覆った。これらの飼育容器は気温25°C、相対湿度60%、日長14時間に調節した飼育室内に静置した。土壌水分は最大容水量の60%になるように調整した。添加した水の量は以下のようにして決定した。すなわち、無処理区と同様に土壌だけからなる容器の土壌表面をアルミ фольで覆い、その水分の減少量を牛糞直下土壌からの水分減少量と等しいと仮定した。3、5、15及び30日後に飼育容器を分解

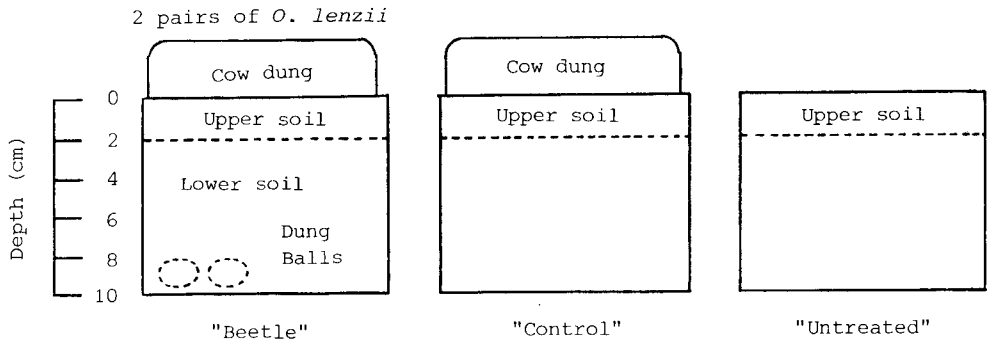


Fig. 1. A scheme of experimental systems.

し、地表面の牛糞及び牛糞残渣、土壤中に形成された糞球、表面下2 cmまでの表層土、2-10cmの下層土を上下層の汚染のないように採取した。糞虫区と対照区では、牛糞及びその残渣は予め決めてあった地表面の線より上部にあるものだけを採取した。糞虫区残存牛糞内に混合されたり、あるいは牛糞上に掘り出された土壌は、牛糞及び牛糞残渣と混合したが、糞虫区・対照区牛糞塊下面に付着した土壌粒子は絵筆やスパチュエ等を用いて取り除き、表層土画分と合わせた。糞球の周囲に付着した土壌も同様に取り除き、下層土と混合した。新鮮重量を測定後、各容器より得た試料をそれぞれ均一に混合し、以下の分析に供した。

実験は1985年に2回、1986年に1回行った。いずれの場合にも、3処理区につき採取日当たり1個の飼育容器を用意した。1985年に行った2回の飼育では、産卵期が終わっていたため、糞球は形成されなかった。これに対し、1986年の飼育では、全ての飼育容器において糞球が観察された。このため、3つの処理区から得られた牛糞及び表層土、下層土についての測定結果はそれぞれ3反復の値として統計処理を行ったが、糞球についての値は1反復のみとして扱った。

2. 微生物数測定

新鮮試料10gを採取直後に微生物数測定に供した。常法に従い一連の10倍希釈懸濁液を調製した後、その1 mlを糸状菌についてはMartinのローズベンガル寒天培地(300ppmのクロラムフェニコールを添加)、細菌及び放線菌については卵アルブミン寒天培地に接種した(Menzies, 1965; Clark, 1965)。培養は30°Cで行った。

3. 化学分析

80°Cで通風乾燥後粉碎した試料の一部を化学分析に供試した。1985年の実験では全炭素・全窒素含量の測定はCNコーダー(柳本製作所製MT-500W)を用い

たが、1986年の実験では全炭素はTyurin法(Kononova, 1961)、全窒素含量は還元鉄を加えたKjeldahl分解後、水蒸気蒸留法にて定量した(AOAC, 1965)。

4. 統計分析

牛糞、土壌の3反復の結果及び糞球の1反復の結果の数値について等分散性を検討した。等分散性が得られた一連の数値についてカドマルエンマコガネの作用を要因として一元分散分析を行った。等分散性が得られなかった一連の結果についてはKruskal-Wallis法により検定した。有意水準は、いずれも5%とした。

結果及び考察

糞虫により攪乱され、侵入孔の開けられた糞虫区残存牛糞の水分含量は有意に減少した(図2 a)。1986年の飼育で形成された糞球もまた、供試牛糞に比べ水分含量が低かった。糞塊内で息をする小型のマグソコガネ属の糞虫により牛糞塊の乾燥が促進されることはStevenson and Dindal (1987)によりすでに報告されている。ここで用いたカドマルエンマコガネは小型のマグソコガネ属とは生活様式が異なるものの、牛糞の乾燥を促進するという点では類似していた。

カドマルエンマコガネの活動にともない土壌粒子が地表に残存した牛糞内に混合されたり、あるいはその表面に掘りあげられた。これら残存牛糞に混合された土壌の影響で牛糞の灼熱損失量が対照牛糞に比べ低下した(図2 b)。また、糞球から土壌を取り除く際に、糞球の外面に直接付着した薄い土壌の層は、糞球に損傷を与えることなく取り除くことは不可能だった。この様な糞虫区残存牛糞及び糞球の灼熱損失量の減少は同時に全炭素・全窒素含量の低下につながった(図3)。小型のマグソコガネ等が牛糞内に多数息するとCO₂発生量が増加し、全炭素含量が減少することが知

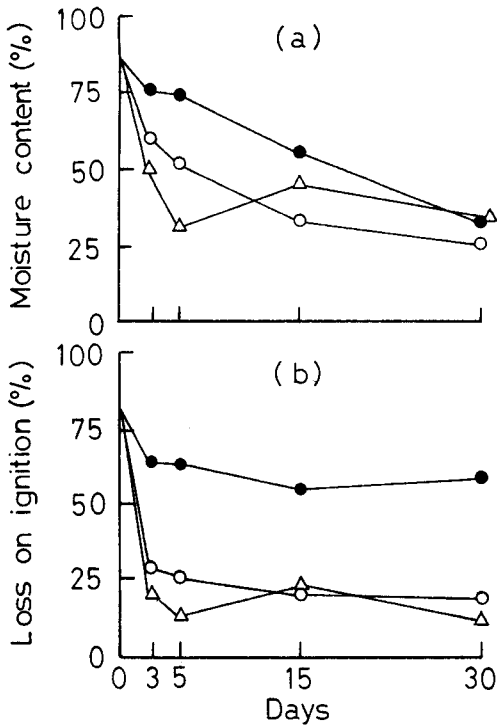


Fig. 2. Changes in moisture content (a) and loss on ignition (b).
○: residual dung, △: dung balls, ●: control dung.

られているが (Stevenson and Dindal, 1987), ここで観察された全炭素含量の低下は, その様な生物学的な過程によって引き起こされる低下に比べはるかに大きかった。同時に全窒素含量も全炭素含量と同様に变化した (図 3 b)。

これらの様子は全炭素・全窒素含量を灼熱損失量当りで表した図 4 においてより明らかである。糞虫区残存糞及び対照区牛糞の全炭素・全窒素含量の間には各々有意差は得られなかった。糞球の全炭素・全窒素含量がこれら 2 試料に比べ有意に低かった理由についてはなお不明である。しかしながら, 全炭素・全窒素含量を対照牛糞と糞球との間で比較したとき, 灼熱損失量当りで表された値は, 乾物当りで表された場合に比べ 2 試料間での差が小さく, 乾物当りの全炭素・全窒素含量の低下の主要な原因は, やはり, 土壤粒子による有機物の希釈にあることは明らかだった。

カドマルエンマコガネは逆に, 直下土壤中の全炭素・全窒素含量を増加させ, 特に直下表層土で顕著だった (図 5 a, b)。パラコプライド型糞虫は牛糞内だ

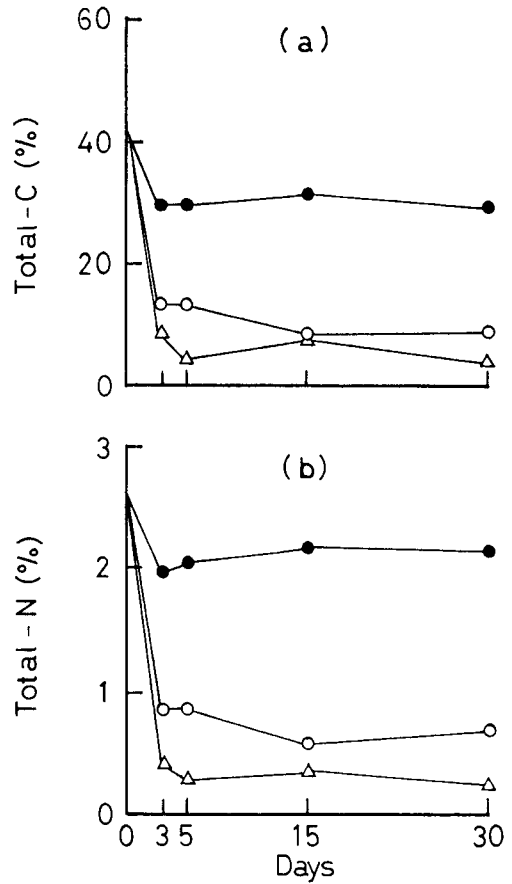


Fig. 3. Changes in total carbon (a) and total nitrogen (b) contents.
Symbols are equal to Fig. 2.

けでなく, 牛糞内と直下土壌を行き来し, 牛糞の一部を土壌中に持ち込み成虫自身の餌とする。これらの活動は, 繁殖期以外にもみられる。従って, 糞虫区表層土での全炭素・全窒素含量の非常に密接な変化の様子は, 有機態の炭素及び窒素が土壌中に運び込まれたことを示している。これは, 供試土壌に比べ高い C/N 比を持つ供試牛糞が混合され (各々, 7.3および16.4), 糞虫区表層土の C/N 比が上昇したことも一致した (図 5 c)。糞虫区下層土においても同様な傾向がわずかにみられた。

対照区表層土の全炭素含量はごくわずかに上昇したに過ぎないが, 全窒素含量は明らかに増加した (図 5 a, b)。一方, この土壌の C/N 比は経時的に減少した (図 5 c)。これらのことは, 対照区表層土には, 水溶性か, あるいはまた, 微小で容易に懸濁され得る有機物

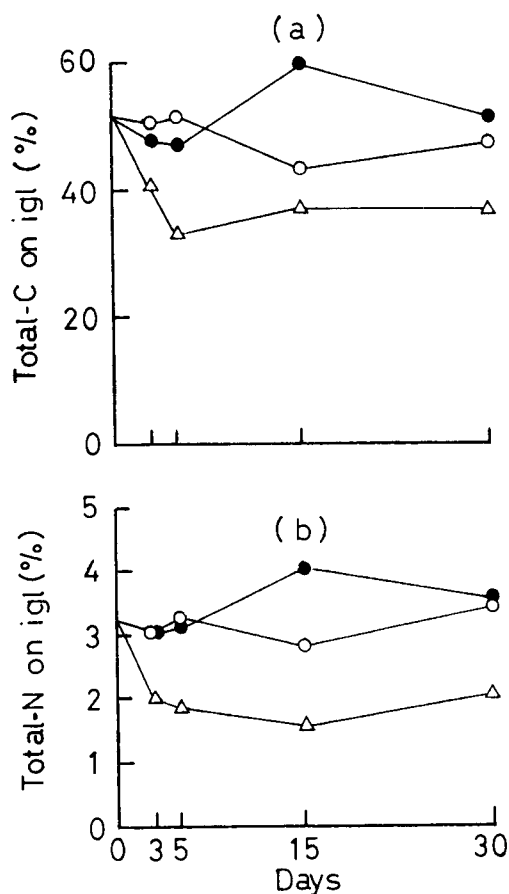


Fig. 4. Changes in total carbon (a) and total nitrogen (b) contents on the basis of the loss on ignition. Symbols are equal to Fig. 2.

が牛糞から移行したことを示している。しかしながら、対照区表層土に移行した全窒素は、糞虫区表層土に比べ著しく少なかった(表1)。これら有機・無機化合物の牛糞から土壌への移行の違いは、カドマルエンマコガネの作用を考える上で重要であろう。

牛糞及び糞球中の微生物数の変化を乾物当りと全炭素含量当りで検討した。乾物当りでは、牛糞及び糞球中の微生物はいずれも概して実験開始後数日間で増殖し、3-5日後に最大に達した。3反復の平均値を用いて統計処理を行ったところ、試料間で菌数に有意差がみられたのは放線菌だけだった。他の微生物数については同一試料でも3反復の実験で約10倍の差があり、有意差が得られなかった。このため、図6と図7には、3反復の実験で得られた各々の菌数を示し、統計分析は行わなかった。しかしながら、概して糸状菌、放線

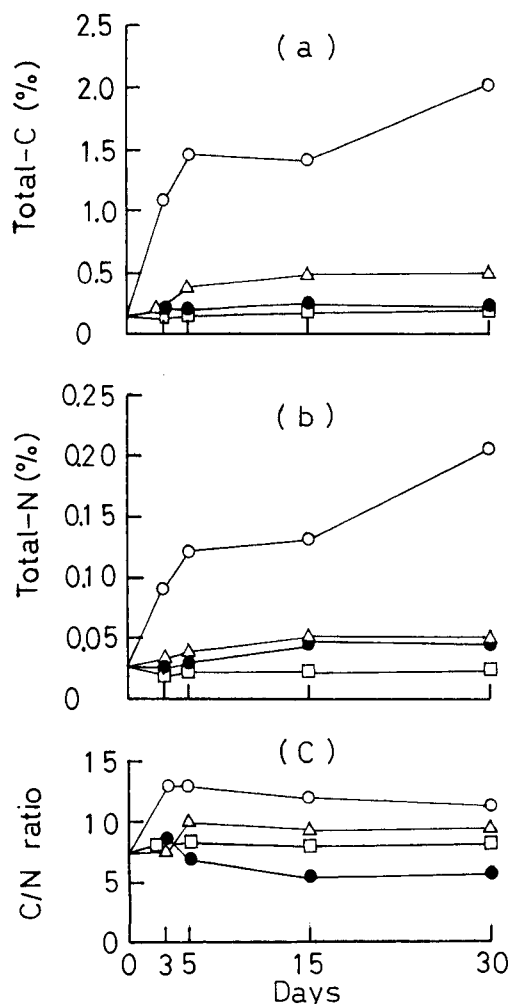


Fig. 5. Changes in total carbon (a) and total nitrogen (b) contents and C/N ratio of soils. ○: upper soil in "beetle", ●: upper soil in "control", △: lower soil in "beetle", □: upper soil in "untreated".

菌、細菌とも同一実験においては、その菌数が対照区牛糞で糞虫区残存糞及び糞球に比べ多いか、又はほぼ同じ程度であった(図6)。この結果は、これら2試料における灼熱損失量(図2b)、全炭素・全窒素含量(図3)の差と同様、糞虫区牛糞及び糞球では混入した土壌により有機物含量が低下し、微生物数にも見かけ上の低下を引き起こしていることを示している。

微生物数を全炭素1g当りで統計処理した場合には、どの微生物についても試料間の有意差は得られなかった。各反復毎の微生物数は、ほぼ同程度だった(図

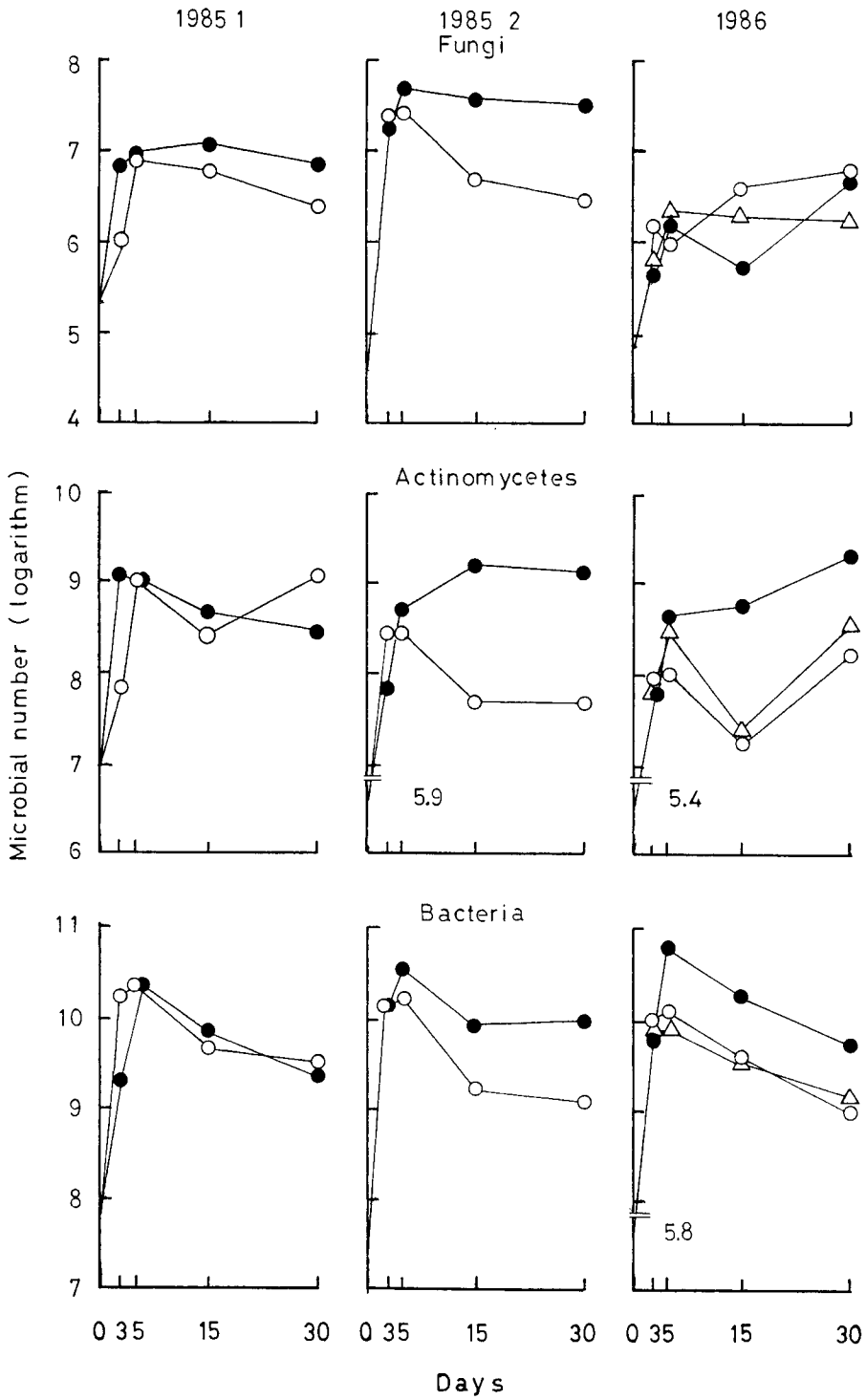


Fig. 6. Changes in microbial numbers on the basis of dry weight of cow dung and dung balls.

Symbols are equal to Fig. 2.

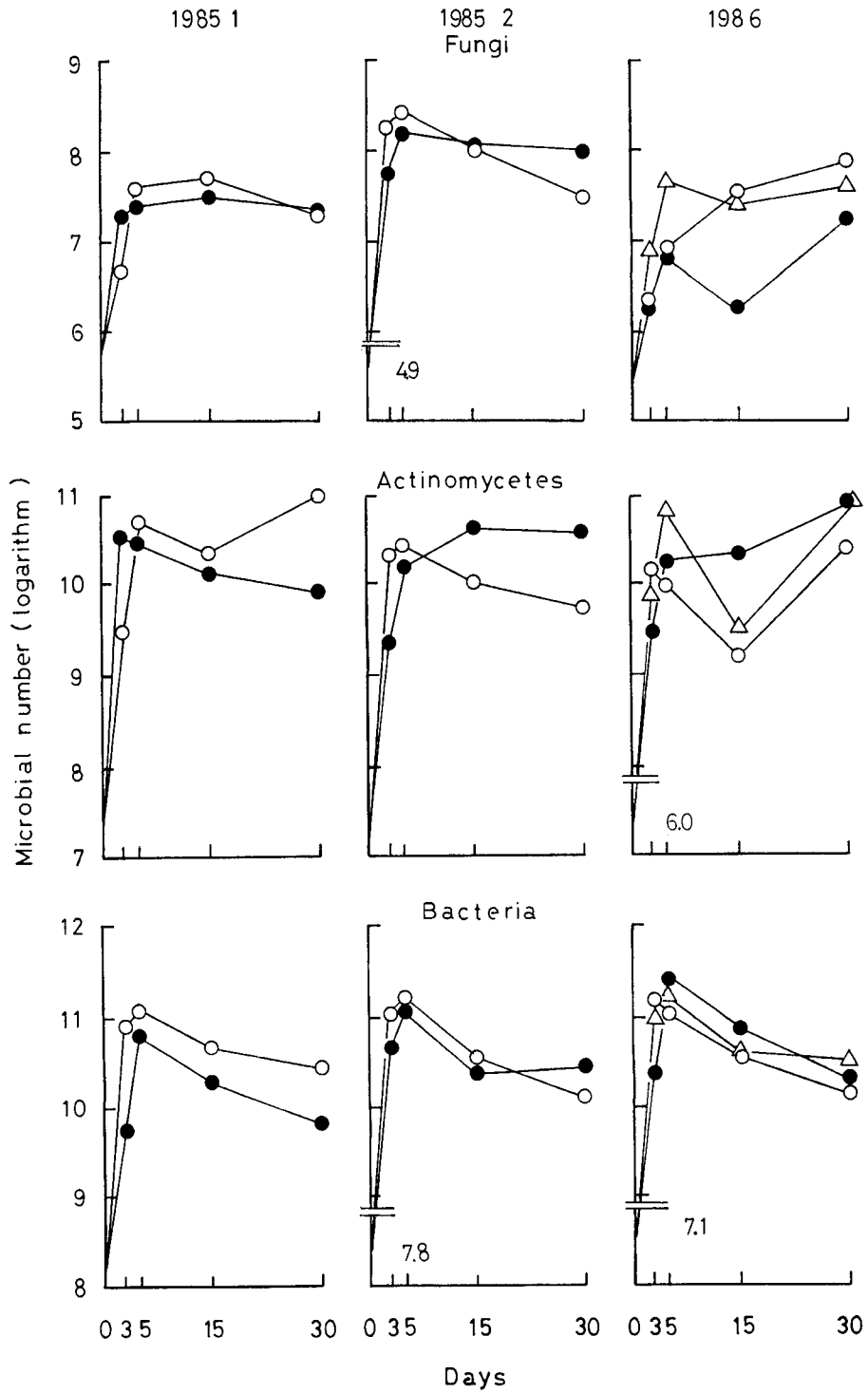


Fig. 7. Changes in microbial numbers on the basis of 1g of total carbon of cow dung and dung balls.
 Symbols are equal to Fig. 2.

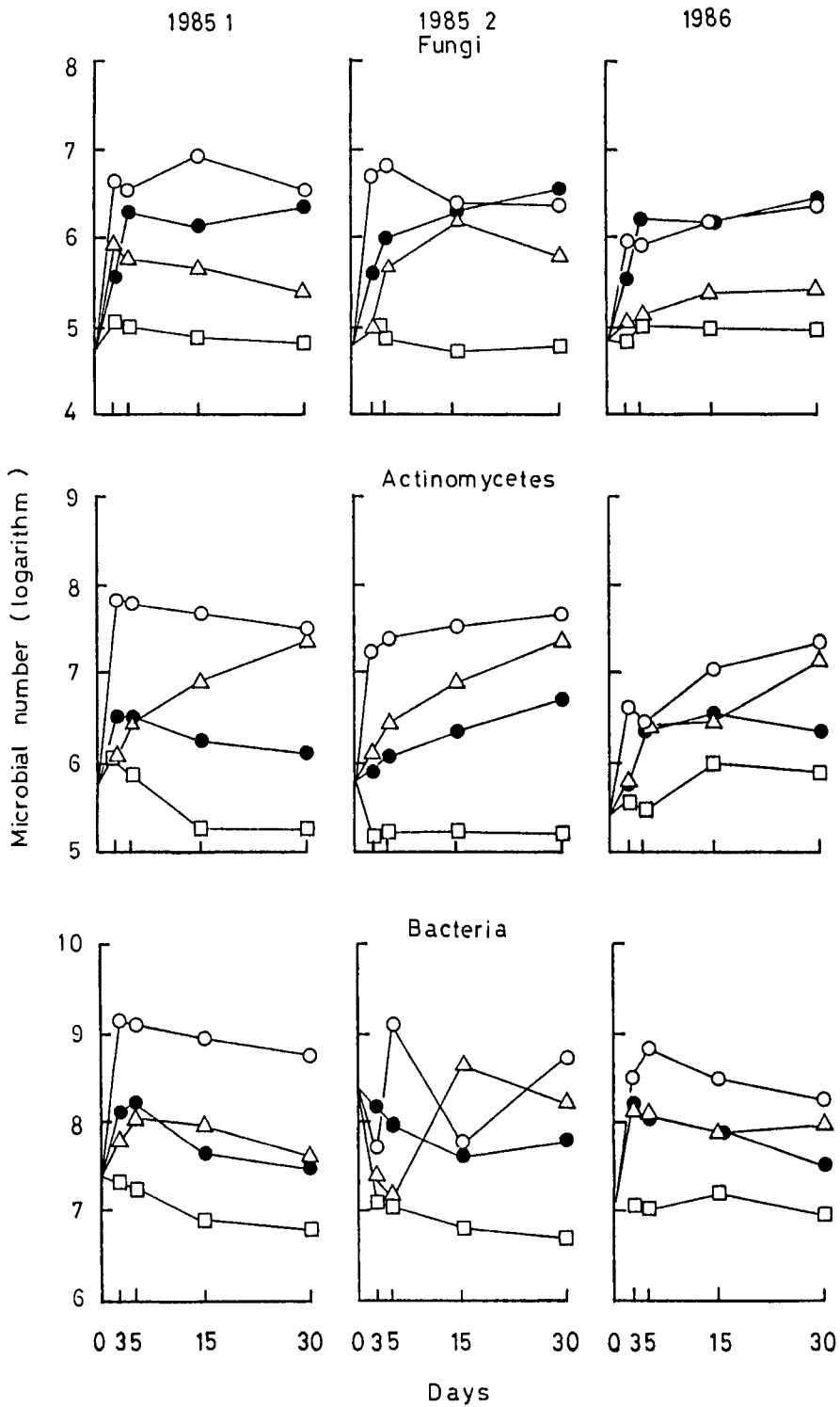


Fig. 8. Changes in microbial numbers of soils.
 Symbols are equal to Fig. 5.

Table 1. The amount of total nitrogen increased in soil samples after 30 days.

Soil	Total nitrogen (μg)		
	Day 0	Day 30	Increased
Upper in "beetle"	17.6	129.6	112.0
Lower in "beetle"	69.7	129.3	59.6
Upper in "control"	17.2	25.7	8.5
Upper in "untreated"	17.6	17.3	-0.3

7). このことから、微生物の生育環境は、3 試料についてほぼ同様であると推察された。灼熱損失量当りで表した糞球の全炭素含量は、他の 2 試料と有意な差があったことから(図 4)、有機物組成は、厳密な意味では他の 2 試料とは異なることも考えられる。しかし、全炭素 1 g 当りで示した微生物数は土壌粒子の影響を排除し、実際の変化を明らかにすることができ、牛糞あるいは糞球中の微生物の生育に対するカドマルエンマコガネの促進的あるいは抑制的な影響を考える上で有効であろう。

土壌動物による有機物の摂食活動は一般的に糸状菌数及びその現存量を減少させ、細菌数を増加させる。糞虫類についても同様な効果が知られており、牛糞中の細菌は糞虫の活動で利用可能な有機物の供給を受け、糸状菌に対して相対的に有利な生育環境を得ること(Lussenhop *et al.*, 1980)、糸状菌数は牛糞の機械的な損傷にともない減少すること(Dickinson and Underhay, 1977)等が原因と考えられている。更に、糞虫類の個体密度がある適当な範囲を越えると、細菌に対しても抑制的な効果を及ぼすことも知られている(Breymeyer *et al.*, 1975)。従って、今回、全炭素 1 g 当りの細菌数が試料間で大差なかったことから、新鮮牛糞 100g に対して 2 対というカドマルエンマコガネの個体密度は、細菌の生育促進にとっては不十分であり、逆に、糸状菌生育を抑制するほどの機械的影響は与えなかったものと考えられる。又、糸状菌菌糸は新鮮牛糞塊内の嫌氣的部位には侵入できないが(Dickinson and Underhay, 1977)、本実験では、カドマルエンマコガネの活動により糞虫区牛糞の水分低下が促進され、糸状菌にとって生育に適した好氣的環境が拡大されたことが示唆された。

土壌中では、糸状菌と細菌の生育に差がみられた。糸状菌数は糞虫区及び対照区の表層土でほぼ同程度であったが、細菌数と放線菌数は糞虫区表層土と下層土で高かった(図 8)。糸状菌は菌糸を伸長させ、牛糞から土壌中に移行してきた養分と同様に、糞虫の作用を受けない牛糞の底面からも養分を獲得できたと考えら

れる。糞虫区表層土ではカドマルエンマコガネにより混合された有機物が養分及び微生物菌体自体の供給源だったと考えられる。細菌は明らかに糞虫区表層土で増加した。これらの微生物群は Lussenhop *et al.* (1980) が野外に設置した牛糞についてみとめたように、糸状菌のように菌糸を伸ばし新たな養分を獲得することが困難なため、カドマルエンマコガネの活動に対する依存度が糸状菌に比べ高かったと考えられる。両方の場合とも、カドマルエンマコガネの活動は牛糞直下土壌の微生物数の増加に有意に促進的な効果を及ぼした。牛糞直下土壌の微生物相遷移は新田・沢田(1977)によって調査された。微生物数は一般的に直下土壌表層で長期間高く維持された。今回得られた結果は概ね彼らの結果と一致した。

土壌動物の中で最も重要なものの 1 つであるミミズもまた、牛糞の地表面からの消失に重要な役割を果たしている(Holter, 1979)。しかしながら、ミミズは牛糞が地表面に設置されてから 2 週間後に牛糞直下土壌にみられた(宮内・横山, 1983)。対照的に、糞虫類は牛糞及びその直下土壌に牛糞設置直後にみいだされる。このように、パラコプライド型を中心とする糞虫類は、牛糞分解過程における牛糞及び土壌の化学的・微生物的变化に重要な役割を果たし、特に分解過程の初期において顕著であることが明らかになった。

要 約

カドマルエンマコガネの作用を受けた牛糞、土壌中に形成された糞球及び牛糞直下土壌の全炭素・全窒素含量と微生物相の変化について検討した。カドマルエンマコガネの作用で、牛糞塊が攪乱され、水分含量の低下が促進されること、この過程で牛糞塊の内部に土壌が混和され有機物が希釈されるため、牛糞の全炭素・全窒素含量が見かけ上大きく低下することが明らかとなった。土壌中には牛糞が混和され、特に直下表層土の全炭素・全窒素とも増加した。これは、おもに全窒素含量だけが増加した対照区表層土とは明らかに異なっていた。

糞虫区残存牛糞・糞球中の微生物数も、灼熱損失量や全炭素・全窒素含量の減少と同様に、土壌の混入により見かけ上、減少した。しかし、全炭素1g当りて表した場合には、試料間の菌数に大差はなかった。本実験では、カドマルエンマコガネの活動は、残存牛糞及び糞球中の糸状菌に特に促進的に作用した。土壌中の微生物数は、概して糞虫区表層土で多かったが、土壌中の細菌・放線菌は糸状菌に比べ、カドマルエンマコガネの活動に対する依存度が高かった。

文 献

- AOAC 1965 Nitrogen, reduced iron method. In "Official Methods of Analysis of the AOAC", AOAC, Washington, D. C., pp16-17
- Bornemissza, G. F. and C. H. Williams 1970 An effect of dung beetle activity on plant yield. *Pedobiologia*, 10:1-7
- Bremeyer, A., A. Jackubczyk and E. Olechowicz 1975 Influence of coprophagous arthropods on microorganisms in sheep feces—Laboratory investigations. *Bull. de L'academie Polon. Sci., serie des sciences biologiques*, 23:257-262
- Clark, F. E. 1965 Agar-plate method for total microbial count. In "Methods of Soil Analysis, part 2", ed. by C. A. Black *et al.*, Amer. Soc. Soil Agron., Inc., Wisconsin, p1463
- Dickinson, C. H. and V. H. Underhay 1977 Growth of fungi in cattle dung. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 69:473-477
- Fincher, G. T. 1981 The potential value of dung beetles in pasture ecosystems. *J. Georgia Entomol. Soc.*, 16:316-333
- Holter, P. 1979 Effect of dung-beetles (*Aphodius* spp.) and earthworms on the disappearance of cattle dung. *Oikos*, 32:393-402
- Kononova, M. M. 1961 The determination of humus by Tyurin's method. In "Soil Organic Matter", Transl. by T. Z. Nowalowski *et al.*, Pergamon Press, New York, pp342-345
- Lussenhop, J., R. Kumar, D. T. Wicklow and J. E. Lloyd 1980 Insect effects on bacteria and fungi in cattle dung. *Oikos*, 34:54-58
- Menzies, J. D. 1965 Fungi. In "Methods of Soil Analysis, part 2", ed. by C. A. Black *et al.*, Amer. Soc. Agron., Inc., Wisconsin, p1504
- 宮内信文・横山和平 1983 放牧地における牛糞および牛糞下の土壌動物相. 鹿大農学術報告, 33:135-139
- 新田恒雄・沢田泰男 1977 牛糞の分解と土壌微生物群の推移. 草地試験報, 11:26-33
- Parkinson, D. 1983 Functional relationships between soil organisms. In "New Trends in Soil Biology", ed. by Ph. Lebrun *et al.*, Proc. VIII Internat. Colloq. Soil Zool., Belgium, pp153-165
- Petersen, H. and M. Luxton 1982 A comparative analysis of soil fauna populations and their role in decomposition processes. In Quantitative ecology of microfungi and animals in soil and litter, ed. by H. Petersen, *Oikos*, 39:287-388
- 笹山清憲・中村清孝・萬田正治・黒肥地一郎 1984 フン虫の日周飛来消長とその季節変化及び気象要因との関係. 日草誌, 29:362-367
- Sr. Angel, K. and D. T. Wicklow 1974 Decomposition of rabbit faeces: An indication of the significance of the coprophilous microflora in energy flow scheme. *J. Ecol.*, 62:429-437
- Stevenson, B. G. and D. L. Dindal 1987 Insect effects on decomposition of cow dung in microcosms. *Pedobiologia*, 30:81-92

Summary

Burrowing and disposal of cow dung pad by *Onthophagus lenzii* Harold, a predominant paracopric dung beetle in southwestern Japan, depleted moisture content of cow dung. Soil was mixed into the residual cow dung and dung balls, and diluted organic matter in these samples. This activity caused a significant decrease in loss on ignition, total carbon and total nitrogen contents of the residual cow dung and dung balls. A part of cow dung was disturbed and was buried into the underlying soil, in particular, into the upper layer (0-2cm) of the soil. Total carbon and total nitrogen contents of the upper layer of the underlying soil, thus, simultaneously increased while total nitrogen content alone increased in control soil.

Microbial numbers in residual dung and dung balls essentially reduced along with the action of the beetles. However, there was not the significant difference among the microbial numbers in the samples when the numbers were compared on the basis of lg of total carbon. The action of the beetles changed the microenvironment being suitable for fungal growth rather than bacterial growth. Microorganisms increased in the upper layer of the underlying soil. Bacteria and actinomycetes in soil were more dependent on the beetle activity than fungi.