

1: 食糞性昆虫の活動が牛糞からの温室効果ガス発生に及ぼす影響

畜産生命科学研究部門 岩佐光啓・茂木佑香里

メールアドレス iwasa@obihiro.ac.jp

研究の概要

【目的】

牛糞に関わる昆虫の働きと温室効果ガスの発生の関係に注目し、食糞性昆虫の活動が牛糞からの温室効果ガスの発生量および牛糞の窒素、炭素、エネルギーの量的変化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】

1. 調査値と牛糞の採取: 帯広畜産大学フィールド科学センター内の、殺虫剤を投与していない乾乳牛(ホルスタイン種)が放牧されている草地において牛糞の採取を行った。簡単にかき混ぜて均等にした後、実際に実験で用いる1kgごとフリーザーパックに分けて冷凍保存した。
2. 供試昆虫: 供試昆虫として以下の2種を選定した。
糞虫: マエカドコエンマコガネ *Caccobius jessoensis* Harold の成虫
ハエ幼虫: キタミドリエバエ *Neomyia cornicina* (Fabricius) の幼虫
以下、それぞれ糞虫、ハエ幼虫とする。両種とも、糞と同様にフィールド科学センターにおいて採集し、糞虫は実験前日に牛糞から採取したものを使用した。また、ハエ幼虫は排泄されて1日以内の新鮮な牛糞から卵を採取し、翌日に孵化したばかりの一齢幼虫を実験に使用した。
3. 実験区の設定と期間: 実験は2010年の下記の期間に行った。
昆虫排除区: 7/14~7/21; 糞虫区: 7/21~7/28; ハエ幼虫区: 8/2~8/9
実験には密閉性のガラス容器(図1: 底面直径 16 cm×高さ 38 cm)を用いた。各実験試料は園芸用の黒土1 kg, 牛糞1 kg, 昆虫の順に容器内へ導入した。ハエ幼虫は、500匹, 糞虫は雄10匹, 雌20匹, 計成虫30匹を導入した。昆虫の密度は、容器の容量と糞の量を考慮して決定した。
また、2009年度の実験は糞内微生物によるガスの発生サイクルを確認するため、容器1つで実験を行った。その結果より、1週間という長期間でのガス発生サイクルには微生物の影響は少ないことが判明したため、2010年度では、容器3つを連動して実験を行った。温度調整は、容器下部から加温装置を用いて行い、10時から17時までを24℃, 17時から翌日の10時までを20℃に統一した。

4. in vitro 連続ガス解析システムによるガスの分析

7日間継続して牛糞からの発生気体を測定した。本実験の試料は生体である昆虫を扱っているため、ガスクロマトグラフに流す気体は空気と同じ成分のクリーンガス（ボンベ容量7000L、組成比N₂:78%, O₂:21%; Ar:He:微量）を用いた。このガスは、個別の飼育容器にそれぞれ流れるため、容器ごとのデータが混ざることはない。また、in vitro連続ガス解析システムでの測定と並行して、システムの最後に装着していた密閉性の袋（ガスバック）の中に溜めていた気体の分析も半日から1日毎に行った。この分析には、CO₂とCH₄はガスクロマトグラフ（GC14-A SHIMADZU）を、N₂OはECD〔電子捕獲型検出器〕ガスクロマトグラフ（GC-1024, 島津製作所）を用いた。これらのガスクロマトグラフは、検出器の装着口にガスバックを装着すると、機械が袋内の気体を取り込み（GC14-A SHIMADZUでは手動でテドラーバックを押して気体を機械に入れる）、ガスバック内の全体量に対する気体の濃度比を読み取り、パソコンにそれらのデータは記録された。測定された濃度を数量化するために以下の式を用いた。

式：二酸化炭素量(ml/分) = ガス流量(ml) × 二酸化炭素濃度(%) / 100

メタンガス量(ml/分) = ガス流量(ml) × メタンガス濃度(%) / 100

亜酸化窒素量(ml/分) = ガス流量(ml) × 亜酸化窒素濃度(ppb) / 10⁻¹

5. 牛糞、土壌およびハエ蛹の化学成分分析

in vitro 連続ガス解析システムを用いた実験が終了した後、容器内の実験サンプルは牛糞、土壌、昆虫に分けてそれぞれ別の密閉性の袋に入れて冷凍庫に保存した。昆虫排除区は微生物の影響を受けるため、実験前のサンプルによるデータを対照区とした。

1) 牛糞の分析

糞の成分分析には、実験区の糞と同時に採取し、1kgずつ密閉性の袋に入れて冷凍していた実験前の糞（対照区）と、各実験で実験終了後に容器ごとに分けて冷凍していた糞を用いた。糞は、分析を開始する前に冷蔵庫内に2日間置いて解凍し、糞の重さを測定した後、揮発性窒素の損失を防ぐため 1N-HCL を噴霧して、60°Cで3日間、通風乾燥機で乾燥させた。このとき、満遍なく全体を乾燥させるために糞を木ベラで混ぜ、1N-HCL を噴霧するという作業を一日毎に繰り返した。その後、埃がかぶらないようにして2日間室温で放置した後、乾燥後の糞の重さを測定してから、ウィレー粉砕機(1029-B型 吉田製作所)を用いて約1 mmに粉砕した。粉砕した糞サンプルは、窒素・炭素量は乾式燃焼法を用いてNCアナライザー（NC-220F型 住化分析センター）により分析し、エネルギー量は熱エネルギー(GE)として、熱研式ボンブカロリメーター（CA-4P型 SHIMADZU）を用いて測定した。また、求めたエネルギー量をもとに、牛糞の乾燥重量1 g当たりの損失エネルギーを、 $R=U-(I \times N)$ (Angel and Wicklow, 1974) を用いて求めた（表3）。Uは、実験前のサンプルが持つ1 g当たりのエネルギー量であるため、対照区サンプルの持つエネルギーとした。

2) 土壌の分析

土壌の成分分析には、実験前の土壌と実験ごとに実験終了時、容器別に分けて冷凍保存していた土壌を用いた。土壌は分析を行う前に2日間冷蔵庫内に置いて解凍した。その後、日陰で2日間乾燥した後、土壌に含まれる大きめの石や植物の根、枯れた葉などを手で除き、粒子を均一にするために粉砕機を用いて細かく粉砕した。その後、これらのサンプルを用いて、窒素・炭素量は乾式燃焼法を用いてNCアナライザー（NC-220F型 住化分析センター）により分析し、エネルギー量は熱エネルギー(GE)として、熱研式ボンブカロリメーター（CA-4P型 SHIMADZU）を用いて測定した。

3) ハエ蛹の分析

ハエ幼虫区において、実験期間の最後に得られるハエ蛹の化学成分を分析した。糞から取り出した蛹を蒸留水で洗浄した後、蛹表面の水分をキムワイプで拭き取り、乾燥させて陶製乳鉢で粉碎したものを分析で用いた。窒素・炭素の測定に用いたサンプルは、乾燥機を用いて40℃で12時間乾燥させた。エネルギーの測定に用いたサンプルは、凍結乾燥機で2日間かけて乾燥させた。窒素・炭素量は、乾式燃焼法を用いてNCアナライザー (NC-220F型 住化分析センター) により分析し、エネルギー量は熱エネルギー (GE) として、熱研式ボンブカロリメーター (CA-4P型SHIMADZU) を用いて測定した。

【結果】

1. CO₂の発生総量は、糞虫区 (137.869 ml) に対して昆虫排除区 (36.931 ml) およびハエ幼虫区 (17.532 ml) で有意に少なかった。経過時間に伴う発生量の推移は、糞虫区およびハエ幼虫区で温度の変化に伴い変動した。
CH₄の発生総量は、昆虫排除区 (4.025 ml) , 糞虫区 (2.324 ml) , ハエ幼虫区 (0.893 ml) の順に有意に多かった。経過時間に伴う発生量の推移は、全実験区で実験開始時に最も多かった。
N₂Oの発生総量は、糞虫区 (0.116 ml) , 昆虫排除区 (0.094 ml) , ハエ幼虫区 (0.011 ml) の順に多かった。発生量の推移は、糞虫区と昆虫排除区は、それぞれ実験開始から60, 104時間後にピーク0.067 ml, 0.047 mlをとった。ハエ幼虫区のN₂O発生は、常に他実験区よりも低い値で推移した。
2. 糞虫区の炭素 (C) 含有率は、対照区よりも有意に少なかったが、ハエ幼虫区では有意な差がみられなかった。ハエ幼虫が蛹に成長する際に獲得した炭素率は35.873%であった。
3. 糞虫区の窒素 (N) 含有率は、対照区と有意な差は見られなかったが、ハエ幼虫区では有意に少なかった。ハエ幼虫が蛹に成長する際に消費した窒素率は8.05%であった。
4. 土壤に含まれる窒素・炭素率は、全実験区において対照区との有意な差はみられなかった。
5. 糞の損失エネルギーは、昆虫排除区に比べて糞虫区で約1.2倍、ハエ幼虫区では約2倍であった。土壤に含まれるエネルギー量は、全実験区において対照区との有意な差はみられなかった。ハエ幼虫が蛹へと成長する過程で、体内に蓄積したエネルギーは2830 J/gだった。