

ネンジュモを芝生から撃退する

静岡県立掛川東高等学校 サイエンス部
2年 伊藤大騎 1年 角替晴信 若林孝尚 松永都夢

1 動機

弓道部が弓道場の芝生に大量発生しているネンジュモに困っており、雨の日に寒天状のネンジュモが芝生の上を被うため、駆除の方法がないかと依頼された。インターネット上で酢が有効と言われていることを聞き、ネンジュモが本当に酸に弱いのか、弱いとしたらその理由はなぜか、について探求することにした。

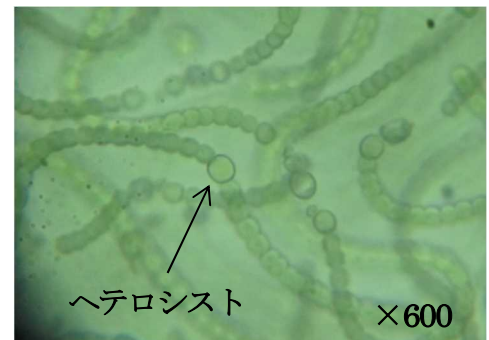
2 本年度の研究

予備実験で酸に弱いことを確認後、次の研究を行った。

- (1) 芝生に影響がなく、ネンジュモを撃退できる酸の濃度を解明する。
- (2) 「酸が光合成を阻害する」と仮説をたて、それを確認する実験を行った。

3 ネンジュモ「イシクラゲ」とは(資料1)

原核生物のシアノバクテリアの一種であり、寒天状のかたまりをつくって陸上に生育する。ヘテロシスト(異質細胞)という大きな窒素固定細胞をもち、それが通常の細胞と1列につながって群体をつくる。つながってはいるが単細胞生物である。また、乾燥状態では乾燥ワカメのような状態で地面にへばりつき、雨が降ると寒天状になって地面を覆う。窒素固定を行う酵素ニトロゲナーゼは酸素に弱いため、ヘテロシストは光合成を行わない。ヘテロシストで合成した窒素化合物と、通常の細胞で光合成した栄養をお互いに交換することで生育する。



資料1

4 薬品 材料

〈薬品〉

塩酸、酢酸、BTB 溶液、ヨードヨウ化カリウム溶液

〈材料〉

ネンジュモ (イシクラゲ) *Nostoc commune* Vauch

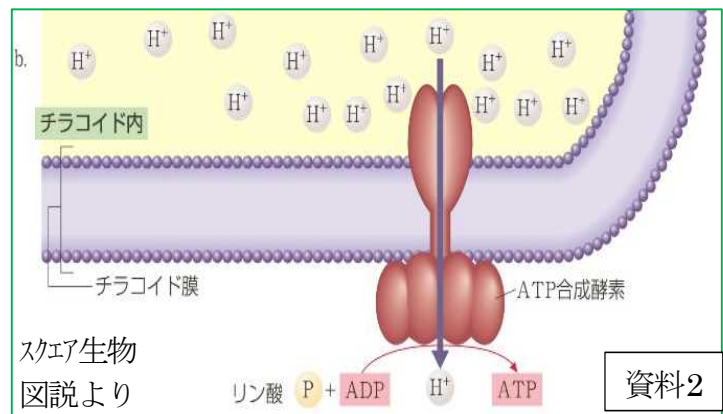
シバ (芝生) *Zoysia* 属

5 仮説1

「濃度が濃くなるにつれて、ヘテロシストが離れる」(仮説1)と予想し、ネンジュモを様々な濃度の塩酸 HCl 中に入れて、離れたヘテロシストをカウントした。水でもどすと、酸の濃度が低下するため、乾燥したままのネンジュモを24時間、1mLの塩酸に入れて観察した。しかし、酸の濃度とヘテロシストの分離に関係は見いだせなかった。また、化学的刺激だけでなく、物理的刺激でもヘテロシストが離れるとわかった。したがって、仮説1の可能性は低いと考えられる。

6 仮説2

雨上がりのネンジュモに酢を作用させた方が駆除しやすいという情報があった。そこで、水が充分で光合成を行っている時に、酸がそれを阻害した場合、生命活動が低下すると考え、「酸によって光合成を阻害する」を(仮説2)として立て、実験を行うことにした。光合成では、資料2のようにチラコイド内とストロマとの間の水素イオン濃



度差を解消しようとして、水素イオンがストロマ側に通抜け ATP 合成を行う。しかし、チラコイドの外側が酸性になると水素イオンが増加して、チラコイド内との濃度差が減り、ATP 合成が抑制される。ネンジュモは原核細胞である。原核生物であるシアノバクテリアは、葉緑体そのまま外の環境に接しているのと同じであり、チラコイドの外側のストロマに当たる場所に、外界の水素イオンが届きやすくなる。それならば、原核生物のシアノバクテリアは、真核生物に比べて酸に弱いはずであると考えた。

7 方法1 芝生とネンジュモの酸への耐性

目的は弓道部の芝生のネンジュモを撃退することなので、ネンジュモを殺すだけでなく、芝生は生かしたままネンジュモを撃退することを目標とした。

(1) 芝生の耐性

芝生がしっとり濡れる量を確認した上で 15cm 四方の方形枠に 60mL ずつの、1.0、0.1、0.05、0.01mol/L の塩酸・酢酸溶液をスプレーして、水の場合と比較した。

(2) ネンジュモの耐性

ネンジュモは乾燥重量 0.5g を直径 8.5cm のシャーレに入れ、15mL の 1.0、0.1、0.05、0.01mol/L の酢酸、塩酸 をかけ水と比較した。

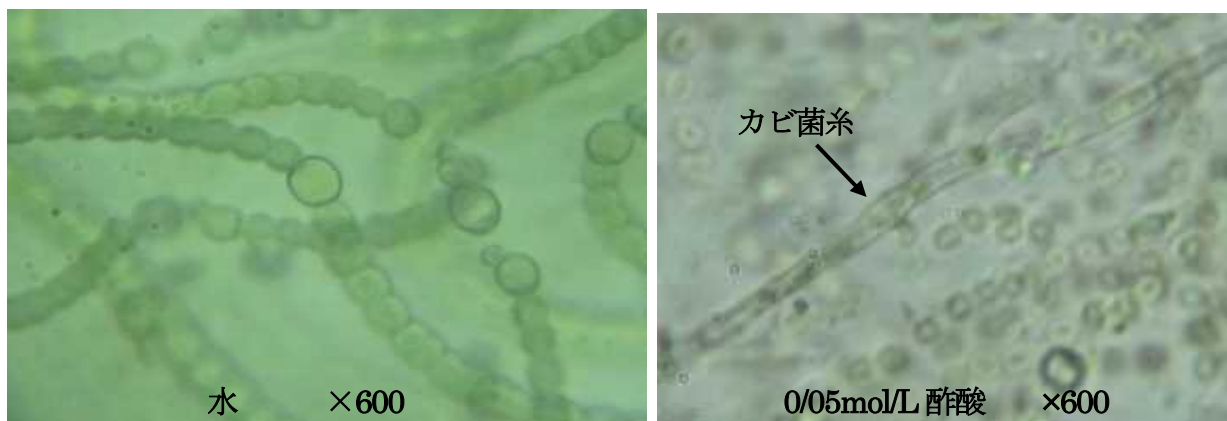
8 結果1 芝生とネンジュモの酸への耐性

(1) 芝生の耐性

塩酸では 0.01mol/L、酢酸では 0.10mol/L 以上で、枯れることがわかった。

(2) ネンジュモの耐性

塩酸では 0.01mol/L 以上で黄色く変色した。酢酸は 0.05mol/L で黄色く変色した。黄色く変色したネンジュモは、数日後に、高確率でカビが生えるのが確認された。600 倍に拡大すると資料 3 の写真のようにカビ菌糸が見え、細胞が減少していた。



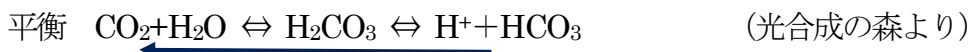
9 考察、弓道場への散布

7、8の結果から、酢酸 0.05mol/L ならば、芝生に影響がなく、ネンジュモを撃退できる濃度であることがわかった。弓道部の芝生約 380m² 中のネンジュモに 0.05mol/L の酢酸を 6.5L 散布した。その後、ネンジュモが減少していることがわかったが、ネンジュモはなくなってはいなかった。酸によって光合成などの生命活動が低下することにより細胞数が減少するのではないかと考えた。

10 方法2 光合成の有無の確認

光合成や呼吸などの生命活動の低下を確認できる方法を探した。まず、ヨードヨウ化カリウム溶液を作用させて光合成によるデンプンの合成を確認しようとしたが、赤紫色の反応は確認できなかった。よって、シアノバクテリアは光合成で作った糖をデンプンに合成しない可能性がある。

そこで、pH 測定と BTB 溶液で判定することにした。蒸留水は水中に CO₂ が溶けて pH5~6 程度の弱酸性になり、BTB 溶液は黄色くなる。光合成を行って CO₂ を吸収することで H⁺ が減少すると、下の式が左に移動する化学反応の平衡が起こって pH9 程度のアルカリ性になり BTB は青色に変色する。



光以外の条件は同じとして実験する。活発な生命活動を行っているネンジュモならば、明所で光合成を行って青色になり、暗所で呼吸を行って黄色となるが、細胞数が減って生命活動が低下したネンジュモでは最初の色と変わらないはずである。

生命活動活発時・・・ 明所：青 pH9（光合成） 暗所：黄 pH5~6（呼吸）

生命活動非活発時・・・ 明所：黄 pH5~6 暗所：黄 pH5~6

また、ネンジュモが濡れている時に生命活動が活発になると仮定すると、乾燥の程度によって生命活動の活発さが変わるはずである。乾燥重量 0.5g のネンジュモを次の3つの状態にし、濃度の違う酢酸を作用させた（資料4）。

A：「ドライ」（乾） 乾燥状態

B：「スプレー」（霧） 水まき程度の湿り気のある状態（水を 2mL スプレーする）

C：「ウェット」（水） 雨上がりの寒天状のような状態（水を 30mL 与える）



資料4

- ① 乾燥重量 0.5g のネンジュモを、ドライ（乾）、スプレー（霧）、ウェット（水）の状態にする。
- ② 芝生に近い状態にするためシャーレの底にろ紙を 2 枚敷き、それぞれに 4mL ずつの 0.05mol/L 酢酸、0.01mol/L 酢酸、水をかける。
- ③ 弓道場と同じになるように、乾燥させながら 2 日間明るい場所に置き、酸による細胞数の減少を確認する。

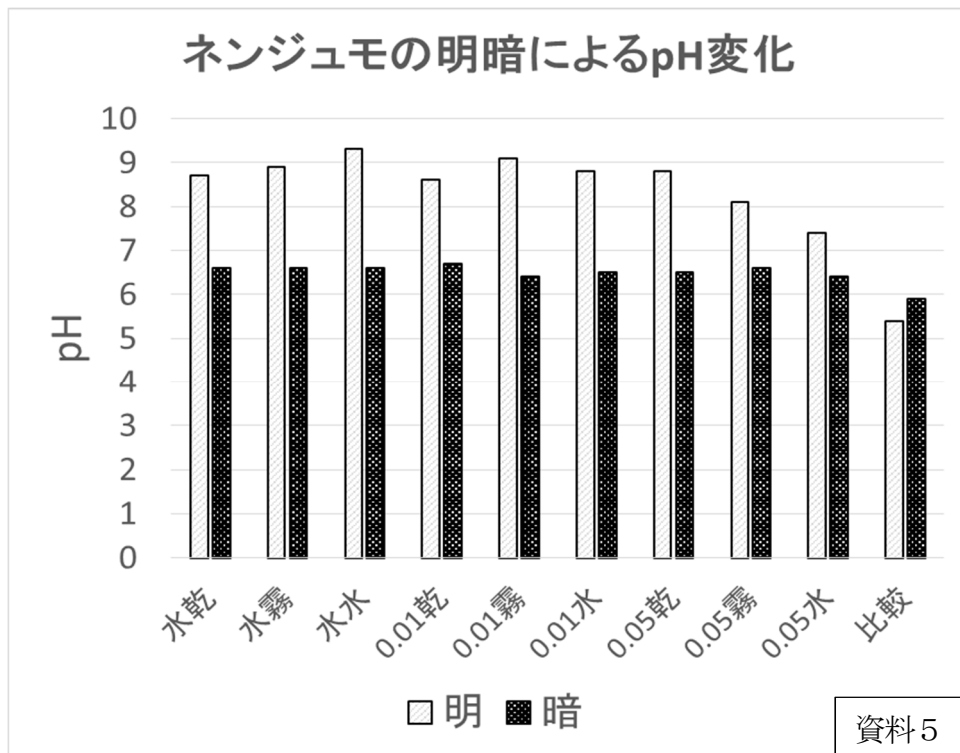
- ④ 作用させた酢酸によって BTB の色が変わらないようによく洗う。
- ⑤ 蒸留水 7ml の入ったスクリービン 4 つずつに、それぞれのネンジュモを水分の含んだ質量で 1.5 g ずつ入れる。
- ⑥ 2 つのスクリービンは 24 時間蛍光灯で照らして光合成させ、もう 2 つのスクリービンはアルミ箔でおおって光を遮断し、呼吸のみを行わせる。
- ⑦ 24 時間後、スクリービンからネンジュモを取り出した後、溶液を pH 測定器で測り、BTB 溶液 3 滴ずつ作用させて変化した色を比較する。

11 結果 2 光合成の有無の確認

酢酸を作用させたネンジュモは、0.05mol/L のウェットのみが黄色く変色しており、他は緑色の正常なネンジュモだった。0.05mol/L 酢酸ウェットは、結果 1 と同じ状態であり、生きた細胞が減少していると考えられる。

資料 5 は pH 変化のグラフであり、明所の結果を白、暗所の結果を黒で表した。明所において、水と 0.01mol/L 酢酸では、「ドライ」(乾)「スプレー」(霧)「ウェット」(水)のすべてが、光合成を行ったことを示す pH9 である。それに対し、0.05mol/L 酢酸では、ドライ (乾) pH8.8 > スプレー (霧) pH8.1 > ウェット (水) pH7.4 と下がり、光合成の活性が低下する。暗所に注目すると、比較の蒸留水だけのものが pH5.9 なのに対し、ネンジュモのある溶液の方が平均して pH6.5 となり pH が高くなった。

BTB 溶液では、明所において、ドライとスプレーは光合成を行う青色を示すが、ウェットでは緑色になり、生命活動活発時の青色にならなかった。BTB 溶液の色からも、0.05mol/L 酢酸ウェットは光合成の活性が低下することがわかる。



12 考察

ウェット状態で 0.05mol/L の酢酸につけたネンジュモでは、酸で黄色く変色して数が減り、光合成量が減少して pH が下がることがわかった。一方ドライでは、酸につけた後もほとんど光合成量が変化しない。予想通り、水分量十分なウェットで生命活動が活発な時には、酸のような悪条件の影響を受け、ドライでは影響を受けにくいことが分かった。

暗所では、ネンジュモのない比較(コントロール)よりも、ネンジュモのあるものが、やや pH が高くなった。呼吸をしていないコントロールより pH が上がるということは少量の塩基性のものが作られている可能性がある。名古屋大学の研究によれば、ネンジュモの一部は、酸素量が低下するとニトロゲナーゼを合成する。今回の結果は、呼吸によって酸素量が減少することでニトロゲナーゼが合成され窒素固定が活発に行われた可能性がある。その結果作られた NH₃ が、水溶液をやや塩基性にしたと考えられる。

13 今後の課題

- (1) 黄色く変色したネンジュモの生き残りの細胞が分裂してもとに戻る期間を調べ、芝生に酢酸を散布する間隔を調べる。
- (2) 暗所で酸素を消費することで、窒素固定が活発になり NH₃ を生成するのかを調べる。
- (3) pH 以外の酸素・二酸化炭素量の測定方法を使い、ドライでも光合成を行っているのかを確認する。また、酸性溶液中でも行っているか確認する。
- (4) 真核生物の藻類に酸を作用させて、原核生物と真核生物の酸への耐性を比較する。

14 参考文献

- ◎ スクエア最新図説 neo 吉里勝利監修 第一学習社
- ◎ 日本植物生理学学会「みんなのひろば」HP [http://jspp.org/hiroba/q and a](http://jspp.org/hiroba/q_and_a)
- ◎ 「光合成の森」早稲田医学生理学研究室 園池公毅 HP
<http://www.photosynthesis.jp/fag/fag11-2.html>
- ◎ 名古屋大学大学院植物分子生理学研究室 藤田祐一 HP
<http://www.agr.Nagoyau.ac.jp/~shokusei/fujita/fujita.html>
- ◎ 陸生ラン藻の環境適応機構 吉田尚之 金沢大学博士学位論文