

# 生分解性プラスチックの分解が 土壤化学特性と微生物群集構造に及ぼす影響 ～生分解性プラスチックの農業利用に向けて～

**Effects of the degradation of biodegradable plastics on the chemical properties  
 and the structure of microbial communities of soil  
 ～A proposal for the agricultural use of biodegradable plastics～**

松本 水香, 嶋田 怜亜  
 指導教員 後藤 早希, 浦瀬 太郎

東京工科大学 応用生物学部 応用生物学科 水環境工学研究室

生分解性プラスチックは農業用フィルムとしての利用拡大が期待されているが、  
 分解により土壤環境中にどのような影響をもたらすかは知られていない。  
 本研究では、生分解性を持つポリヒドロキシブタン酸 P(3HB)の土壤への影響を調査した。

キーワード：生分解性プラスチック, 土壤化学特性, 土壤微生物群集構造

## 1. 緒言

微生物の働きにより、水と二酸化炭素に分解することができる生分解性プラスチックは、今後農業での利用が増えていくと予想される。しかし、生分解性プラスチックを農業で使用した場合、農作物へどのような影響を及ぼすかあまり検討されていない<sup>1)</sup>。土壤微生物は地力維持や物質循環の役割を担っており<sup>2)</sup>、土壤中の微生物群集構造は農業において極めて重要である<sup>3)</sup>。したがって本研究では、微生物が生産する生分解性プラスチックであるポリヒドロキシブタン酸(P(3HB))が土壤中で分解された際に、土壤化学特性と土壤微生物群集構造へどのような影響を与えるかを調べることを目的とした。

## 2. 方法

### 2. 1. 粒子状 P(3HB)の分解実験

大学内の圃場から採取した土壤をポットに 70 g はかりとり、破碎した P(3HB)30 mg を埋土した。同様に調製した複数のポットを屋外に設置して、定期的に水を与えながら、分解前、3 週間後、2 か月後、3 か月後にそれぞれ回収した。

### 2. 2. 土壤化学特性の分析

回収した土壤 5 g と純水 25 mL で攪拌し土壤抽

出液を作成し、pH および電気伝導度(EC)を、pH メーターおよび EC メーターにより測定した。さらにこの抽出液を用いて、サリチル硫酸法により、硝酸態窒素濃度を測定した。また、土壤 0.5 g と抽出用硫酸液(0.002N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)100 mL で攪拌して土壤抽出液を作成し、パックテスト®により、リン酸濃度を測定した。

### 2. 3. 土壤微生物群集構造の解析

各土壤サンプル 0.5 g から、DNA 抽出キット ISOIL for Beads Beating(ニッポンジーン)を用いて DNA を抽出した。これを鋳型とし、THUNDERBIRD® SYBR™ qPCR Mix(TOYOBO)を用いてリアルタイム PCR を行った。表 1 に使用したプライマーを示した。PCR 後、各サンプルの Ct 値を求め、 $\Delta\Delta Ct$  法に基づいて土壤全体の細菌量(16S rRNA)に対する各細菌の割合(%)を算出し、土壤微生物群集構造の解析を行った。

表 1 リアルタイム PCR に使用したプライマー

Target group	Primer	Sequence(5'-3')
16S rRNA	341F	CCTACGGGAGGCAGCAG
	518R	ATTACGGCGGCTGCTGG
Firmicutes	Firm934F	GGAGYATGTGGTTTAATTCGAAGCA
	Firm1060R	AGCTGACGACAACCATGCAC
$\beta$ -proteobacteria	Beta979F	AACGCGAAAAACCTTACCTACC
	Beta1130R	TGCCCTTTCGTAGCTAGCAACTAGTG
$\gamma$ -proteobacteria	Gamma1066R	GCTAACGCATTAAGTRYCCCG
	Gamma877F	GCCATGCRGCACCTGTCT

### 3. 結果

#### 3. 1. 土壌化学特性の変化

3週間、2か月間、3か月間経過後に、回収した土壌抽出液のpHを調べたところ、分析を行った時期によって測定値に若干の違いが見られたが(pH:6.2~5.2)、P(3HB)の有無による変化は見られなかった。電気伝導度も、P(3HB)の有無による変化は見られなかったが、2か月後は、平均191.7  $\mu\text{S}/\text{cm}$  だったのに対して、3か月後は、339.0  $\mu\text{S}/\text{cm}$  と上昇した。

一方で、土壌抽出液のリン酸濃度、硝酸態窒素濃度を測定したところ、3週間後と3か月後ではP(3HB)を添加した土壌の方が、添加していない土壌と比較して、どちらも値が高かったが、2か月後では低かった(図1および図2)。

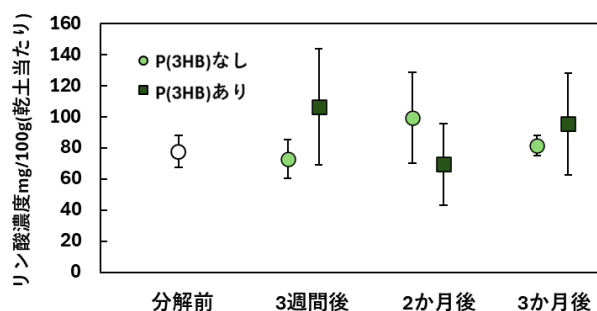


図1 リン酸濃度の測定結果

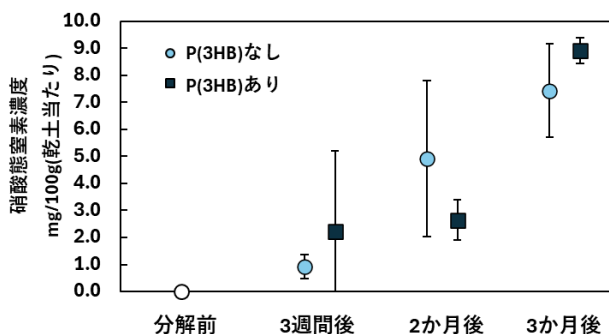


図2 硝酸態窒素濃度の測定結果

#### 3. 2. 土壌微生物群集構造の変化

リアルタイムPCRより、土壌微生物群集構造を解析したところ、 $\beta$ -proteobacteria 網では、P(3HB)の添加の有無にかかわらず、分解実験期間が経過するごとに割合の増加が見られた。一方でP(3HB)を添加した2か月分解後の土壌において、土壌全体

の細菌量(16S rRNA)に対する Firmicutes 門の割合が増加した。

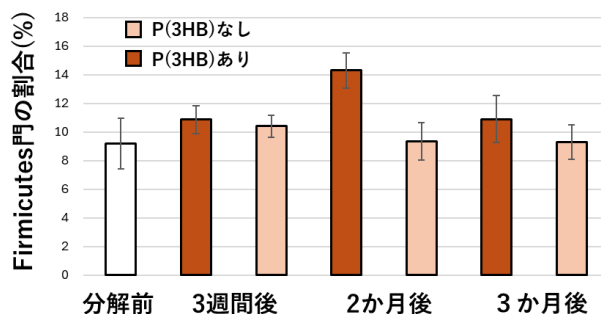


図3 リアルタイムPCRによる土壌微生物群集構造の分析結果

### 4. 考察

P(3HB)を添加した土壌において、2か月後までは、P(3HB)が土壌に残留していることを目視で確認できたが、3か月後では確認できなかった。リン酸および窒素の量が、添加していない土壌と比較して、2か月後に、低くなった理由として、P(3HB)の分解に伴って、分解菌が増加したことにより、土壌中の栄養元素がこれらの細菌に取り込まれたか、土壌中の有機物を無機化する微生物が減少したからだと考えられる。

また、P(3HB)を添加した2か月分解後の土壌において、Firmicutes 門の割合が増加した。これは、P(3HB)を分解する *Bacillus* 属などの細菌が Firmicutes 門に含まれていることとの関連が考えられる。

### 5. 参考文献

- 1) J, Zhou et al. Soil Biology and Biochemistry, Vol. 156, Page 2, 2021
- 2) 丸本卓哉, 日本土壌肥料科学雑誌, 68巻, 3号, 229-232頁, 1997
- 3) 日本土壌協会, 有機栽培技術の手引き〔果樹・茶編〕, 33頁, 2013

本研究は、日本生命財団の若手研究・奨励研究助成による助成を受けたものです。