

## 根圏の原生動物

島野 智之

(独) 農業技術研究機構 東北農業研究センター

**要旨**：土壌原生動物は土壌生態系において線虫とともに、有機物あるいは微生物を摂食するという、第2次栄養段階に位置している。原生動物は、微生物を摂食するだけでなく、微生物の機能を促進する働きがある。根圏においては、根と微生物、そして原生動物が関与することで、より活性の高い栄養の循環をおこなっている。

**キーワード**：原生動物 (原生生物), 土壌生物, 根圏, 窒素代謝。

### 1. 原生動物の生物学的位置

原生動物界 (Protozoa) は一般に真核単細胞動物を指すが、現在ではときに藻類や多細胞生物をも含む (Margulis et al., 1991)。リンネ (Linnaeus, 1735 "Systema naturae") は、生物を分類する最も大きな階級として界 (Kingdom) を設立し、生物は動物界 (Kingdom Animalia) と植物界 (Kingdom Plantae) に分けられるとした。すでにこの考え方のなかでさえも発見されていた生物のうちで唯一、原生動物はどちらの生物群にもまたがっている“やっかいな生物群”であった。例えば、葉緑体をもちながらも自走するミドリムシ類が、植物にも (葉緑体を持つ) 動物にも (自走する) またがっていたものに該当する (また、これ以外にもアメーバや繊毛虫類においてさえ、細胞内共生により葉緑体を持つものが存在する)。著名な生態学者 Whittaker (1969) は、栄養摂取の様式 (光合成・捕食・吸収) にもとづいて、5界説 (すなわち、動物界・植物界・菌界・モネラ界 (= 原核生物) そして、原生生物界 (protista, protoctista) を提唱した。これに続き、細胞内共生説と第3の共生生物といわれた原生動物の鞭毛 (当時はスピロヘータの共生と考えられた) などの観点から、細胞共生進化説の騎手 Margulis による5界説が提唱されたのは1970年であった (Margulis, 1970; Margulis & Schwartz, 1988; Margulis et al., 1991)。さて現在、広く受け入れられている Whittaker と Margulis の5界説の問題は消去法によってしか定義できない原生生物という生物群を界として認めていることである。未だ系統の異なる多くの生物が、

原生生物界を構成していた。5界説は、感覚的には理解されるが、系統の情報を犠牲にしていた。

しかし、Cavalier-Smith によって、1981年に最初に提唱された8界説は系統分類学の知識を取り入れたことが評価されている。多系統性 (系統の異なるを生物群を同一のものとしてあつかうこと) を未だに原生動物界 (Protozoa) に残していることは事実であるが、分子系統学的手法も併用しながら、新たな見解を加えつつ、ほぼ毎年何らかの改訂が重ねられている (Cavalier-Smith, 1981; Cavalier-Smith, 1993; Cavalier-Smith, 2002 など)。

土壌に生息する生物群で、これら生物分類体系の変革の波を最も受けたのは植物でも他の土壌動物でもなく、原生動物なのである。つまりそれは、全く別々の系統の異なる生物であるにもかかわらず、自走できる真核単細胞生物であるというだけで同一の動物群として一般的に扱われていることを、Cavalier-Smith の8界説の提唱までただ受け入れざるを得なかったという歴史である。そのような渾然一体となった生物群が、一般的に科学の対象として受け入れられることは難しいだろう。まずは、多系統性が認識されなければ対象生物の問題点も見えてはこないだろう。ほかの土壌動物がそれぞれの目や綱といった分類群ごとに細かく分担・専門家を持っていることと比較しても、原生動物は高次分類体系を常に考慮に入れ全体を扱わなければならないという難しさを持っているように感じる。口の悪い原生動物研究者は、自嘲しながら自らの研究対象のことを「ゴミ箱生物群」と

2002年5月20日受付 2002年8月23日受理

\*連絡先 〒960-2156 福島市荒井字原宿南50 東北農業研究センター  
Tel: 024-593-5151 Fax: 024-593-2155 E-mail: satoshis@affrc.go.jp

いう。他の分類群に入れられないわからないものを、ここに入れるのだそうだ。ある土壤動物学者は、土壤に棲息する動物をさして「土の中は、わけのわからないものでいっぱいだ\*」といった。原生動物界こそ、取り残されたわけのわからないものの集まりになっている。

\* : Es winnelt in Boden von Unbekanntem!  
(Gisin, 1947)

## 2. 土壤原生動物のバイオマスと生活環

これまでに全世界で発見・記載された原生動物界の生物の種類はおおよそ4万～5万種類といわれている。これら同定された種類の多くは、水圏（海水・淡水）、または寄生性のものであり、土壤圏については限られた情報しかない。今後の仕事の展開が大いに必要である。土壤に生息する原生動物をここでは現在の分類体系（Lee et al, 1985; 高橋, 2000; Lee et al, 2002）ではなく、わかりやすい一般的な慣例に従って、アメーバ類、鞭毛虫類、繊毛虫類と呼ぶことにする。また、土壤原生動物の試験法は他の土壤動物とは異なり、ツルグレン装置やペールマン法では正確な抽出はできない（ツルグレン法の逆で、低温にして動物を抽出する方法は海産のもので行われることがある）。したがって、同定・定量には、直接検鏡法、培養法、超遠心法などがもちいられる（解説として、橋本, 2000 など）。

それでは、原生動物の仲間は土壤にどのくらいの量が棲息しているのだろうか。手のひらにほんの少しという感じの1gの乾燥土壤を図1に示した。比較するために、まず淡水での原生動物のバイオマスの例を取り上げる。Sorokin (1965) は、湖の原生動物の垂直分布について水深約20mを調査した。この湖の中では、湖水1mlあたり栄養体の原生動物が数十

個体以下が大半であり、最も多い分布域で約200個体であった。さて、土壤の報告例（Vargas & Hattori, 1990）を表1に示した。この報告ではいったん乾燥させたのち、シストから栄養体になった原生動物の細胞をカウントしている。湖の場合と簡単な比較は出来ないが、1gの土壤中（図1）にアメーバでは123000細胞、鞭毛虫類が27300細胞、小型の繊毛虫が12100細胞が存在していた。原生動物を全部あわせると、1gの乾燥土壤の中には約17万の細胞が存在することになる。

それでは、その土壤の中に蓄えられている（らしい）原生動物のシストとはなにか。原生動物の土壤中での生活環に言及しておく。生活環の中で、運動性があり活発に摂食し、無性的に分裂して増殖する時期の細胞を栄養型（trophozoite, active form）とよび、体表の周囲

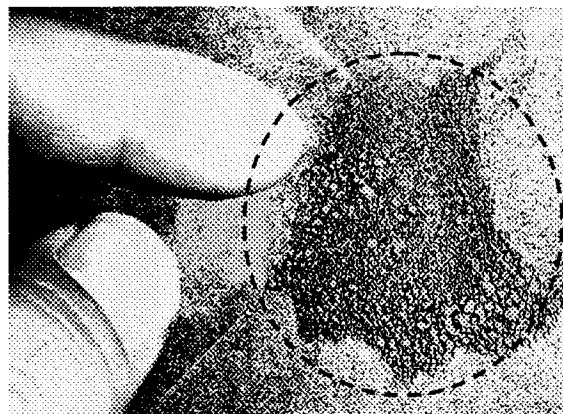


図1. 乾燥土壤1gの実際の量(破線). 示している筆者の指と比較していただきたい.

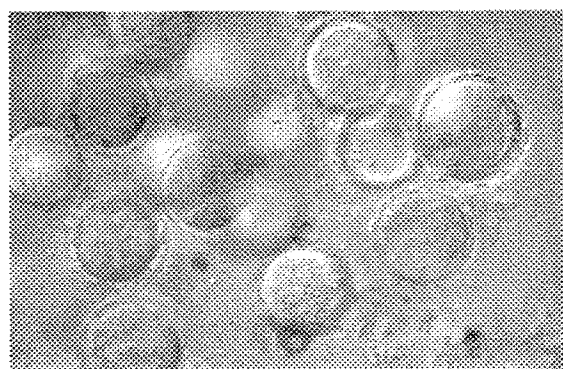


図2. *Stylonychia mytilus* (繊毛虫類)のシスト(直径約40-50 $\mu$ m). (原生物情報サーバより了承を得て借用; 撮影者・月井雄二) 繊毛虫類のシストはお互いにとてもよくくっつくシスト期には支持体に固定が容易なためであろうと予想される.

原生物情報サーバ、

URL: <http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/PCD0652/htmls/82.html>

表1. 土壤団粒の乾土1gあたりの土壤原生動物の細胞数 (= 個体数)<sup>1</sup>

原生動物群	細胞数 <sup>2</sup>
アメーバ類	123000 (172)
鞭毛虫類	27300 (38)
体長の小さな繊毛虫類*	12100 (17)
<i>Colpoda</i> spp. (繊毛虫類)*	5720 (8)
体長の大きな繊毛虫類*	1090 (1.5)
合計	169210 (236)

<sup>1</sup> Vargas and Hattori (1990)より, most probable number (MPN) 法で原生動物の生息数を推定した.

<sup>2</sup> 乾土1g中の平均の団粒数は714個。カッコの中は、ひとつの団粒内の原生動物細胞数の平均

\* 繊毛虫類のみの合計は18910 (26.5)細胞

に分泌された物質で膜や壁ができて、一時的な休止状態にあるものをシスト (cyst, inactive form; 図 2) と呼ぶ。これ以外に一般的な自由生活性の原生動物には性があるために、遺伝子の交換をおこなうが、その有性生殖期には形態が変化する。遺伝学・細胞生物学では、この形態を重要視するが、細胞内部の変化がしめる部分も多いため、生態学的にはそれほど意味をなさないで触れないことにする。淡水に生息する原生動物にはシストを作らない種類も多くいる。しかし、土壌に棲息する原生動物の多くは、土壌の乾燥、および環境条件の変化・餌の減少をシスト化 (シスト形成: encystation) によって回避しているものと考えられる。土壌性の繊毛虫やアメーバ類は塩濃度等、外界の条件の変化で容易にシスト化することが可能である (石井, 1999)。

栄養型の細胞が外界の変化に反応し、その形態を全く別の生物群 (亜門レベル) のように変化させる場合がある。アメーバ類 (ナエグリア目) には、生活環の一時期、鞭毛虫類と同じように鞭毛をもつものが存在する。このためアメーバ類と鞭毛虫類は現段階では分類学的には、おなじ有毛根足虫門 (Phylum: Sarcomastigophora) に入れられている (Lee et al., 1985)。例えば、大きめの鞭毛虫だと思って、顕微鏡でしばらく遊泳し移動する様子を観察していると、餌に出会うとみているうちから鞭毛が消失しアメーバ状に変化する。30 秒に満たない時間で、いわゆる完全なアメーバの姿になる。アメーバ類は生活環だけではなく、塩濃度・遊泳状態などによっても形態は、刻々と著しく変化することがよく知られている (石井, 1999)。一方、繊毛虫類でも Corliss (1973) によれば、シスト期の前後では栄養体の体長が全く異なることが指摘されており、さらに、ごく一般的な種類である *Tetrahymena* 属のなかには、体長の全く異なる 2 つの栄養体期を持つものがおり、生活環としてこの 2 型を順番にとるわけではなく、それぞれの表現型が別々の生活環を持つ場合があることが報告されている。したがって、正確な同定のためには、生活環のステージごとの観察が必要なだけでなく、このような予備知識をふまえた総合的な観察も必要になる。原生動物は、このようにいつも典型的な栄養型細胞の形態で生息しているわけではない、と言うことを認識することが必要である。

話はそれるが、アメーバ類の中には、人体に害を及ぼすものがごく稀にいる。土壌に棲息する種の中には、土壌という多様な環境条件で

生きるために高い適応能力を持つものがある。ごくまれに人体の脳内でさえ増殖してしまい致命的な病気を引き起こすこともある。*Naegulia* 属 (既述のナエグリア目) は原発性アメーバ性脳髄膜炎を引き起こすといわれているが、実際の症例は世界でもそれほど多くなく、国内でも深刻な症例はこれまでほとんど報告されていない。詳しくは、Martinez, 1985; 吉村ほか, 1990 等を参照されたい。

さて、根圏および非根圏の原生動物のバイオマスと存在種は異なるのであろうか。Zwart et al. (1994) の総説によれば、繊毛虫類・アメーバ類・鞭毛虫類のいずれも双方で変わらないという報告があるものの、ほとんどの報告では非根圏に比較して、根圏で顕著に栄養体のバイオマスは増加している。これらの報告では全体で 10 種近くの植物にわたって、ポットおよび圃場について調べられている。また、繊毛虫については栄養体だけでなく、シストを含んだ全細胞数も根圏で 2 倍近く増加している (Griffiths, 1990)。一方、ミクロな視点に立ち、一本の根の先端付近でのアメーバの細胞数を計測した Coûteaux et al. (1988) によれば、小麦の根を寒天上で一定期間伸張させた場合、根端から 0.1mm-0.4mm までは栄養体が増加し、0.5mm-1.2mm まではシストの数が増加していたという。これは根の伸張にともなって根端からの浸出物によってアメーバが脱シスト化し増殖した後、根の伸張にともない浸出物が減少することによって再びシスト化したものと考えられる。

根圏および非根圏の原生動物の存在種についての報告は多くはない。双方で異なるという説 (Biczók, 1965; 筆者ほか, 未発表) と、変化はないという説 (Darbyshire & Greaves, 1967) がある。根圏および非根圏の存在種に変化はないと言う報告中でも、鞭毛虫類のいくつかの種に限っては、根圏で特異的に活性化されていた (Darbyshire & Greaves, 1967)。構成種の変化 (シストがうけた化学物質などの外的刺激によって、活性化されて脱シストし栄養体になっているものを構成種とみなした場合) は、微生物群集が根圏で解放する物質と、植物の根の浸出物が原因であるだろうと Zwart et al. (1994) は推測している。

### 3. 土壌生態系の中での原生動物の役割

このように、原生動物は過酷な土壌条件下でもシスト化など様々な手段を使用して生き延び 1g の乾燥土壌中に、約 17 万のシストという

(前述) 多数のバイオマスを蓄積している。これらは、それぞれの種にいったん好適な条件がそろえば、すぐに栄養型となり運動を開始するとともに摂食をおこない、短時間で急激な増殖をおこなう (Bamforth, 2001)。このような土壌中の原生動物は、土壌生物の中での生態的役割は重要で土壌生態系への影響は大きいと思われる。

原生動物の捕食対象のひとつであるバクテリアとの関係は、密接であることが容易に推察される。原生動物とバクテリアとの最も古典的かつ評価されている研究として、1年間毎日土壌を採集するという Culter et al. (1922) による膨大な調査がある。この報告は、その関係性をよく示唆している。毎日の連続した調査のため、測定方法などは限定されているが、栄養型 (active form) のアメーバの数とバクテリア数の増減に、捕食者のアメーバが増加すれば被食者となるバクテリア数が減少する、あるいはその逆といった関係が調査期間中 86%について認められた。この結果は Darbyshire (1994) によっても再評価されている。では、もっとその範囲を生態系まで広げてみるとどうなるのだろうか。

図3に Wardle (1995, cited from Pankhurst, 1997) による土壌生態系の食物網の模式図を改変して示した。原生動物の捕食者として土壌性のワムシ (Rotifera: 輪形 (リンケイ) 動物門) (筆者、未発表)、土壌藻類 (ミミズとの関係で後述) なども、おそらく重要だと思われるがここには省略する。有機物を資源にバクテリア・糸状菌類が生育し、これらを線虫および、

原生動物が摂食する。糸状菌類は大型土壌動物 (2mm 以上) に摂食され、中型土壌動物もまた植物遺体とあわせて、または選択的に糸状菌を好んで摂食する (点線)。中型土壌動物が、バクテリア、糸状菌そして有機物の三者を摂食しているように書かれてあるのは、微生物のよく繁殖している有機物を摂食し餌資源としていることが考えられている。

図中のミミズ (大型ミミズ、以下「ミミズ」とする) は、原生動物からみてみれば、ブルドーザーのような (もっと大きな) 勢いで有機物を摂食している。しかし、それら有機物のみを栄養源としているのではないらしい。この図中の破線で囲んだもの、原生動物、糸状菌、バクテリアの3つを必要な栄養源としている。Flack & Hartenstein (1984) によれば、ミミズ (*Esenia fetida*) の培養において多くの原生動物とバクテリアの種を供給すれば、ミミズはよく成長し、バクテリアだけの時よりも原生動物を入れたときに成長率は 20%も良くなった。また、Edwards & Fletcher (1988) は、ミミズの栄養源に微生物が含まれている必要性を証拠付けた実験をまとめ、ミミズの成長には栄養源に 1. 糸状菌, 2. 原生動物, 3. 土壌藻類, 4. バクテリアの順番で大切であることを述べている。ただし、Edwards (私信) によれば、ミミズが必要としているもののうち、特に重要なものは糸状菌であって、それ以外のものは、糸状菌との摂食量のバランスが重要であると示唆している。

図中の太い矢印は筆者が付け加えた。最初に原生動物とバクテリアとの関係を述べたが実際のところ、それ以外のものも捕食しているためである。たとえば、Hino (1935) は繊毛虫類をもちいて植物病原糸状菌の生物防除を試みた。また、Homma et al. (1979) や Chakraborty (1985) はアメーバ類を用いて試みた。一方、線虫捕食性原生動物の分離報告例もある。例えば、Foissner (1987) によって線虫捕食性アメーバ *Theratromyxa weberi* の生物防除への利用が検討された。多くの線虫捕食性アメーバの報告は再分離をされていないことが残念である。原生動物の捕食機能を生物防除に利用する際の技術的・実用的問題点、その解決方法などについては、別の機会に紹介したい。

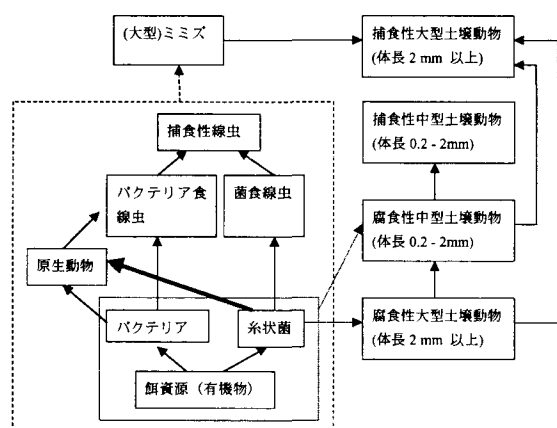


図3. 土壌中の腐食連鎖の概念図 (after Wardle, 1995 cited from Pankhurst, 1997). 点線または波線の囲みのなかの動物はさらに上の栄養段階の基質を食べる動物と一緒に摂取される。太い矢印は筆者が付け加えたもの (本文参照)。

#### 4. 根圏の窒素無機化での原生動物の直接的役割

土壌生態系の中での原生動物の役割を、主にバクテリアとの関係について述べたが、物質循環についても、バクテリアとの間での影響についての報告が多い。そのうちでもより多く取り上げられる窒素に基づいた関係で、原生動物が植物根の無機成分の供給に与える影響について話を進めたい。このメカニズムとして、原生動物はバクテリアを捕食するが、バクテリア細胞すべてが原生動物の体内だけで消費されるエネルギーとなるわけではないことが重要となる。原生動物は一般に、吸収した全炭素 40%を取り込み、30%を呼吸により消費し、残りの 30%を排出する。従って捕食者と被食者の C:N 比が

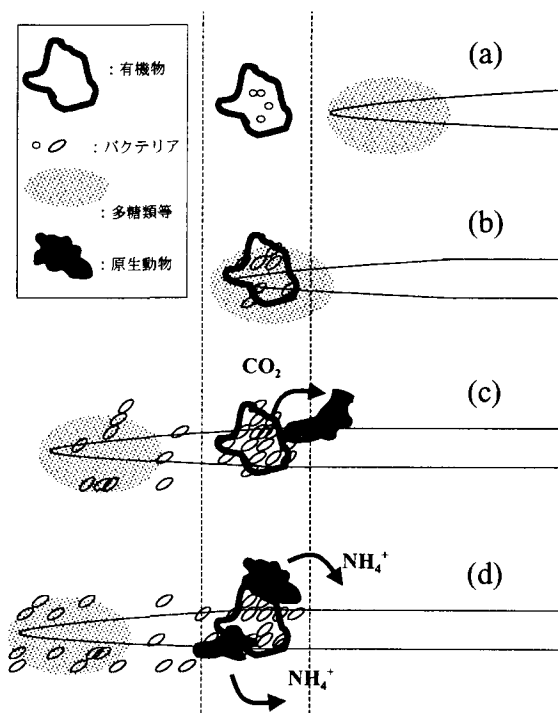


図4. 植物の根および、バクテリアとその捕食者（原生動物）の関係。根の成長と土壌中の有機物、バクテリアの活性促進の結果として、土壌有機物からアンモニア態の窒素が放出される (Charholm, 1985 を改変)。詳細は文中を参照。

同じ程度であれば、窒素については摂食されたバクテリア細胞に含まれる窒素成分の 40%が消費され、残りの 60%が環境に排出されることになる (Griffiths, 1994)。この場合バクテリア細胞に蓄積されている窒素が原生動物の捕食・排出によって環境に還元され、それがより多く根に吸収されると考えられた。これを根の養分供給に対する「原生動物の直接的役割」と呼ぶことにする。この図式は、それまでの研究から明らかになったことを含めて Clarholm (1985) によって示された (図4)。(a) 土壌有機物表面に吸着したバクテリアは、炭素源が限定されているため増殖しない状態にある。植物根の伸張によって根の先端部分から多糖類が分泌され、また根の細胞が剥離し、これらは易分解性炭素源として供給される (Iijima et al., 2000 など)。

(b) バクテリアは土壌有機物を無機化して菌体窒素として取り込む。(c) 増殖したバクテリアは二酸化炭素を出すため原生動物がそれに誘引される (Clarholm, 1985)。(d) 原生動物の捕食活動により、餌のバクテリアに由来する無機態窒素が根近くに供給される。このため植物根は、原生動物の存在により効率的にバクテリア由来窒素を吸収することができる。例えば、ポット試験で大麦の根が存在することで窒素無機化が促進されることは Klemetsson et al. (1987) が報告しており、この試験ではアンモニア硝化菌が増加し、アンモニアの硝化率の増加が確認された。

なお、捕食・消費されたバクテリア由来の無機化窒素成分が、最終的に植物に吸収されていることは例えば Kuikman & van Veen, 1989 によって証明されている。彼らの報告によれば、バクテリア由来の窒素成分の利用について、植物と他の土壌バクテリアとの競合があるものの、顕著な例では原生動物の捕食活動により植物への吸収量は 64%の増加が確認された。

その他の無機成分も原生動物のバクテリア摂食により環境中への放出・還元される例を表2にまとめた (Darbyshire et al., 1994; Barbeau et al., 1996; Ferrier-Pages et al., 1998)。鉄につ

表2. 原生動物のバクテリア摂食による無機成分の放出・環境中への還元の例\*

1. リン (絨毛虫)	放出されるリン濃度が有意に増加 <i>Arthrobacter</i> sp.	Darbyshire et al., 1994
2. 鉄 (襟)絨毛虫	海洋では原生動物捕食が可給鉄供給を担う <i>Halomonas halodurans</i> および ケイ藻	Barbeau et al., 1996
3. アミノ酸 (絨毛虫・鞭毛虫)	原生動物は取り込んだ全窒素成分の10-16%を放出	Ferrier-Pages et al., 1998

学名は使用されたバクテリア (カッコの中は実験に使用した原生動物)

\* 無機化窒素成分はのぞく

表3. 原生動物によるバクテリアの活性促進が示された例

1. 炭酸ガスの発生(促進) (アメーバ・鞭毛虫)	炭酸ガス発生量は有意に増加 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Kuikman et al., 1990
2. 硝化活性の促進 (鞭毛虫)	捕食圧下で菌あたり硝化活性が4~5倍促進 <i>Nitrosomonas europaea</i> , <i>Nitrobacter winogradski</i>	Verhagen et al., 1993
3. 窒素固定活性の促進 (繊毛虫)	菌密度は減少、窒素固定活性は増加 <i>Azotobacter chroococcum</i>	Darbyshire, 1972 *
4. メタン生成活性の促進 (繊毛虫)	促進効果は捕食者数に相関 <i>Metopus palaeformis</i>	Biagini et al., 1998
5. 拮抗能の増加 (アメーバ)	シデロフォア生産の促進による拮抗能の増加 <i>Fusarium oxysporum</i> に対する <i>Pseudomonas putida</i>	Levrat et al., 1987

学名は使用されたバクテリア (カッコの中は実験に使用した原生動物)

\* 他の例として、Griffiths, 1989 本文参照

いては、物質の循環がおこりにくい海洋の例であるが、窒素成分だけではなく他の無機成分も原生動物によって環境中に放出されている (Barbeau et al., 1996).

## 5. 原生動物によるバクテリアの活性促進

特に根圏環境において原生動物がバクテリアの活性を促進する機構を第6節において説明する前に、まず一般的な原生動物によるバクテリアの活性促進効果について述べる。表3に原生動物によってバクテリアの何らかの活性が促進されることが示された例をいくつか示した。

(1) 炭酸ガスは、原生動物が摂食することによって発生する (Kuikman et al., 1990)。

(2) 硝化活性の促進 (Verhagen et al., 1993) では直接摂食されなくてもその活性が促進される (Griffiths, 1989; 後述)。(3) 窒素固定は被食菌数が減少するにもかかわらず4~5倍の促進が認められる (Darbyshire, 1972)。(4) メタン生成は、全バクテリア数は減少したが促進効果は捕食者数に相関した (Biagini et al., 1998)。

(5) 拮抗能については、拮抗菌は被食されるが4~5倍の拮抗能促進が認められる (Levrat et al., 1987)。これらは、原生動物が対象のバクテリアを捕食するため、その捕食圧がきっかけとなって、バクテリアが反応しているように見える例である。しかし、(2)の硝化作用の促進は、原生動物が積極的にその種を摂食できる状態にあるわけではなく、その硝化細菌は直接的に摂食される反応によって活性が促進されているのではないと考えられている (Verstraete, 1981)。

原生動物の摂食は、原生動物とバクテリアが、たとえ1対1の培養でも、バクテリアの個体数を著しく減少させるにもかかわらず、バクテリア細胞の代謝を促すことが (バクテリアの生産物の増加、細胞数が減っても実際の生産物

の量が変わらないなど)知られている (Habte & Alexander, 1978)。このような、原生動物のバクテリアの活性促進現象の理由 (仮説) が、Pussard et al. (1994) によってまとめられている。(1) 摂食により若く活性の高い細胞が、その個体群の中にしめる割合が大きくなるという説 (Culter & Bal, 1926; Curds, 1977 など)。

(2) 原生動物はバクテリアにとって好適な環境を作り出すという説。酸素濃度が高まることになり *Azotobacter* による窒素の固定を阻害することになるが、原生動物の活動は酸素を消費するためこれを回避できる (Darbyshire, 1972)。また、 $\text{NH}_3^+$ の排泄と、培地が酸性なることをよく防ぐ (Hirai & Hino, 1926)。(3) 原生動物が生産または排泄する物質が、バクテリアの活動または成長率の促進を担っているという説 (Hervey & Greaves, 1941; Levrat et al., 1992 など) (後述)。(4) 原生動物の摂食による物質のリサイクルという説。これは、植物への「原生動物の直接的役割」において、すでにふれたことである。植物同様に環境中に放出された栄養源は、バクテリアにとっても活性を促進することになる。単純に物質という観点に立てば、アメーバは摂食したバクテリアの構成要素のうち42%を排泄しているという (Heal, 1967)。

ここで述べてきた、「バクテリアを捕食する生物自身が、生産または排泄する物質が、バクテリアの代謝を促し物質の生産を促進する」という現象は生態学的にも大変に興味深い現象である。ここでは、さらに原生動物が実際にバクテリアの物質生産を促進した例を挙げて、説明しておきたい。*Pseudomonas fluorescens* (バクテリア) と *Acanthamoeba castellanii* (アメーバ) の二員培養 (10倍に希釈した King's B 培地) において、*Pseudomonas* の生産する色素 (pyoverdine) を指標にその物質生産活性を測定したところ、単独で培養するよりも2倍の色

素を生産した (Levrat et al., 1989). 二員培養後8日後の培地を濾過して、単独培養の区に2~5倍になるように添加しても、同じような増加現象が観察された。Acanthamoeba を単独培養し、その培地を濾過し、Pseudomonas の培地に添加した区 (斜線) と添加しない区 (白) にわけて pyoverdin を測定した結果を図5に示した。これらの実験条件ではバクテリア細胞数の増加と、生産物の量には相関関係はなかった (Levrat et al., 1992)。同じ結果は Naegleria gruberi という、全く別のアメーバを用いた試験でも得られた (Pussard & Levrat, 1994)。鉄の欠乏が pyoverdin の生産をあげたのではないかと、という疑問もこれらの試験結果からは否定されている。Pseudomonas によって生産される同様の色素 cyanidric acid の生産については、Acanthamoeba を単独培養し、その培地を濾過し加えることで、2~3倍の生産の増加がみられたという (Pussard et al., 1994)。以上の結果から、バクテリアを食べるこれらのアメーバから、バクテリア代謝への刺激物が少なくとも、ひとつ以上生産されていると考えられた (Pussard et al., 1994)。これらのアメーバは、摂食によってバクテリアの個体群を更新するだけではなく、たとえバクテリアが低濃度で存在していても、これらに何らかの刺激を与えるものを生産していることが結論づけられた。また、これらの刺激を引き起こす物質は、個体群の成長率への関与はしていないようであった (Harvey & Graves, 1941; Nikoljuk, 1965)。ただし、いまのところ筆者の知る限り、この物質を同定した等の知見は得られていない。

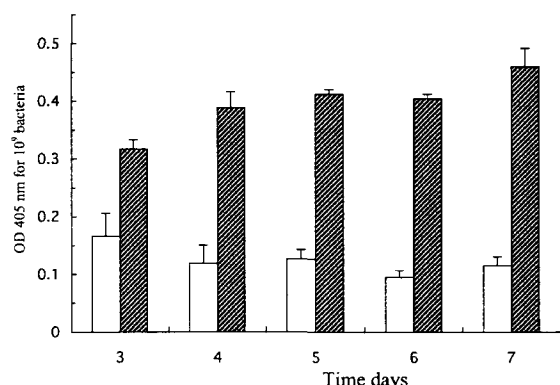


図5. 土壤微生物培養中のアンモニア ( $\Delta$ ) と硝酸 ( $\circ$ ) の濃度の変化。実線は原生動物を入れた場合、破線は原生動物を入れなかった場合。試料から得られた土壤微生物群を培養した。(Griffiths, 1989 の結果に基づいた Griffiths, 1994 の図を書き直した)。

## 6. 根圏の窒素無機化での原生動物の間接的役割

さて第4節に示したように、1980年代には原生動物の摂食作用が、根圏での窒素無機化に与える直接的役割に関して研究が進められてきた。継いで、第5節ではバクテリアの物質生産機能を高めるなどの原生動物の機能についてもわかってきたことを述べた。

こういった背景にもとづいて、特に窒素無機化について1990年代以降、硝化作用を持つバクテリア、すなわち硝化細菌について原生動物は摂食する以外の間接的な影響をおよぼし、それが窒素の循環に影響するのではないかと考える次の研究段階の流れができてきた。ここではこの考え方を「原生動物の間接的役割」と呼ぶことにする。この考え方は Griffith (1989) が説明に用いたことから、広く引用されるようになった。硝化細菌の成長率は低く、バイオマスも他のものに比べて大きくないので集中的に摂食されているわけではない (Verstraete, 1981)。それにもかかわらず、原生動物の存在下では硝化作用が促進される。間接的役割と呼ぶのは、このような窒素無機化を原生動物が間接的に補助するためである。Griffiths (1989) による結果を図6に示した。土壤試料から得ら

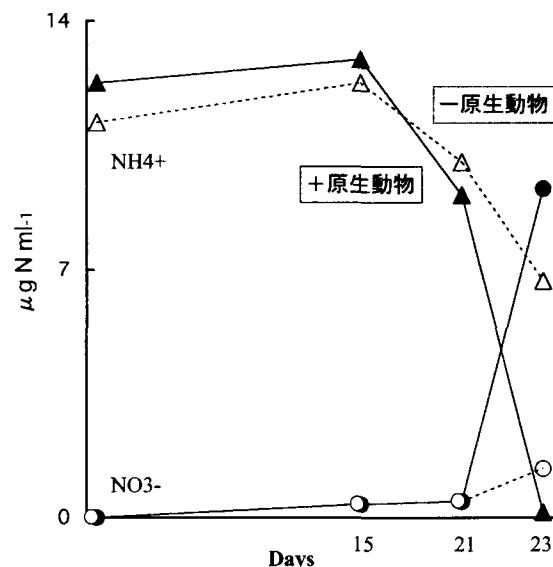


図6. 微生物から分泌される色素濃度の変化。色素の量を Pseudomonas fluorescens 細胞  $10^9$  乗あたりの濃度として計算。10倍希釈された King's B 培地に、Acanthamoeba を単培養した培地をフィルター濾過し、10%になるように添加した (斜線) ものと、対照区として King's B 培地を10%になるように添加した (白) もの。(Levrat et al., 1992 を改変)。

れた微生物群をアンモニア酸化細菌計数培地 (ammonium oxidizer medium) で培養した場合、原生動物を添加した区では対照区と比較して、微生物群の窒素無機化活性が高くなった。原生動物がアンモニアの無機化に関わる微生物以外の微生物群を捕食したために、微生物間の競争関係が弱められたことによる硝化細菌数の相対的增加によるという作業仮説は、この硝化細菌の増殖率が高くないという観点から否定的に議論されているが、はっきりした証拠はない。また、原生動物からの2次代謝産物がこのような硝酸化の促進に働いているとも考えられるが、その明確な証拠もまだ得られていない。

さて、窒素源が増えることに対して、植物側の反応として根の量が増加する現象が観察された。しかし、Robinson et al. (1989) と Griffith & Robinson (1992) の実験によれば、原生動物の存在下の根の増加量は、原生動物による直接窒素源の増加量 (前述) から推測できる根の増加量よりも、はるかに多い。過剰なほど十分量の栄養を与えながら砂の中で育てたトウヒ (マツ科) の根の量は、対照区に比較して、原生動物を与えた区では 60%以上も増加した。また、原生動物の生息が、トウヒ実生の根の伸張と細根をともなった、枝分かれの数の増加に強く影響していた (Jentschke et al., 1995)。ライグラスにおいても、原生動物の棲息下では、根が細くなり分枝が多くなる方向に根の形態が顕著に変化した (Bonkowski et al., 2000)。

さて、多くの土壤微生物は生物成長物質を生産しているが、Lehman et al. (1994) によれば土壤の再湿潤後のトリプトファン濃度 (オーキシンの前駆物質) の増加の原因のひとつは、原生動物がバクテリアを摂食することによる (バクテリア体内からの?) 放出であると説明する。また、非共生バクテリアとして植物の成長を活性化させる (Lynch, 1988; Kloepper et al., 1989; Chanway et al., 1991) ことで注目を集めている PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) のなかにも、オーキシン等を分泌するものがあり、PGPR の効果と原生動物の植物の根に及ぼす効果は似ている (Bonkowski et al., 2000)。また、Chanway et al. (1991) によれば PGPR と植物成長は比例関係ではなく、PGPR の生息密度の限界を超えて植物成長が促進されていたことが報告されている。

植物の根の形成・発達に原生動物が影響を及ぼす場合があることがわかってきたが、それがどのような段階を経て起きてくるのか、植物の根という複雑な要素の絡み合った組織に、原

生動物が及ぼす影響を観察することは大変に難しいと思われるが、新しい観点でもあり今後の発展が十分に期待される。

これまで、述べてきた原生動物の効果についても、たとえば、バクテリアの代謝に刺激を与える物質など、原生動物のいったい何が、バクテリアに効果を及ぼしているのか、その物質そのものを同定するには至ってはいない。実験材料として、細胞生物学分野では多岐に用いられている原生動物であるが、その細胞生物学分野における細胞遺伝学・細胞内構造等のめざましい先駆的結果とは対照的に、これまでに述べてきたような成長促進物質などの二次代謝産物やその生態的役割などについて、それほどよくわかっていこともまた事実である (Fenchel, 1987)。最初にしたように、原生動物は多系統性を持つ大きな分類群であって、そこに何が生息しているのかを探るだけでも大変なことである。これらの種・分類群が複雑に影響しあっているとすれば、野外の現象を解読することもまた至難の業かもしれない。しかし、土壤原生動物研究者が、これまでやってきたように、ひとつひとつの問題を解決してゆくこともまた必要なことかもしれない。

## 7. 最後に

一般的に土壤動物や土壤微生物と比較して、土壤原生動物にはまだ明らかになっていない部分が多いのではないだろうか。バイオマスが多い割には、その存在が明確にされてこなかったからかもしれない。また、土壤原生動物に関しては、いわゆる教科書的常識とかけ離れていく場合も生じることがある。それは、土壤の原生動物がそれほど研究されていない証であり、知られていない証なのではないだろうか。

土壤原生動物を植物病原菌の生物防除資材として用いる試みは、Hino (1935) 以来行われてきているが、一種の原生動物で一種の病原菌を撲滅する考えは、あまり現実的ではないように感じる。説明してきたように土壤中には原生動物は相当量のバイオマスと、多様性 (高橋, 2000) をもって棲息している。多様性を維持することで、総合的にこれらの機能を引き出せたらどんなに素晴らしいことだろう。植物栄養の面から第6節では、植物の根への間接的な効果についてまとめた。基本的には土壤微生物を摂食してコントロールしている生物のひとつであることを考慮に入れながら、土壤原生動物によって生物防除と植物栄養の相互を結びつけることも、そのバイオマスを持ってすれば、不可



能ではないはずである。

これまでわからなかったこと、誤差か測定ミスだと思われていたこと、理由のつかなかったことが、原生動物の仕業であったと言うことが、きっとでてくるだろう。それまでとりつく島もないとおもわれていた研究が、盛んになるに従っていくつものブレークスルーを起こすことがある。「わけのわからないゴミ箱生物群」とたとえ研究者が自称しても、なんとかそれらの未知の部分を切り拓いていきたいものである。

## 謝 辞

原稿に適切なアドバイスをいただいた西九州大学・高橋忠夫教授、九州沖縄農業研究センター橋本知義室長、励ましをいただいた東北農業研究センター岡野正豪室長、江波義成主任研究員、白石啓義研究員に謝辞を捧げます。愛媛大・中村好夫教授には、原稿の一部の作成について重要な御教唆をいただきました。心より感謝を申し上げます。

また、本原稿の執筆中に滞在した SUNY College of Environmental Science and Forestry の土壌動物学 Roy A. Norton\* 教授にも、励ましやアドバイスをいただきましたことに、感謝を申し上げます。

\* Via a fellowship under the OECD Co-operative Research Programme: Biological Resource Management for Sustainable Agriculture Systems.

## 引用文献

Bamforth, S.S. 2001. Proportions of active ciliate taxa in soil. *Biol. Fertil Soils* 33: 197-203.

Barbeau, K., Moffett, J.W., Caron, D.A., Croot, P.L., Erdner, D.L. 1996. Role of protozoan grazing in relieving iron limitation of phytoplankton. *Nature*. 380: 61-64.

Biagini, G.A., Finlay, B.J., Lloyd, D. 1998. Protozoan stimulation of anaerobic microbial activity: enhancement of the rate of terminal decomposition of organic matter. *FEMS Microbiol. Ecol.* 27: 1-8.

Biczok, F. 1965. Protozoa in the rhizosphere. In *Progress in Protozoology, 2nd International Conference of Protozoology, London 1965*. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, pp. 120.

Bonkowski, M., Griffiths, B.S., Scrimgeour, C.M. 2000. Substrate heterogeneity and microfauna in soil organic 'hotspots' as determinants of nitrogen capture and growth of ryegrass. *Appl. Soil Ecol.* 14: 37-53.

Cavalier-Smith, T. 1981. Eukaryote kingdoms: seven or

nine? *BioSystems*. 14: 461-481.

Cavalier-Smith T. 1993. Kingdom protozoa and its 18 phyla. *Microbiol Rev.* 57: 953-954.

Cavalier-Smith T. 2002. The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of Protozoa. *Int J Syst Evol Microbiol.* 52: 297-354.

Chakraborty, S. 1985. Survival of wheat take-all fungus in suppressive and non-suppressive soils. *Pedobiologia* 28: 13-18.

Chanway, C.P., Turkington, R., Holl, F.B. 1991. Ecological implications of specificity between plants and rhizosphere micro-organisms. *Advances Ecol. Res.* 21: 121-169.

Clarholm, M. 1985. Possible roles for roots, bacteria, protozoa and fungi in supplying nitrogen to plants. In Fitter, A.H., Atkinson, D., Read, D.J., Usher, M.B. eds. *Ecological Interactions in Soil*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 355-365.

Corliss, J.O. 1973. History, Taxonomy, ecology and evolution of species of *Tetrahymena*. In Elliot A.M. ed. *Biology of Tetrahymena*. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc. Stroudsburg, Pennsylvania, pp. 1-55.

Coûteaux M.-M., Faurie, G., Palka, L., Steinberg, C. 1988. Le relation predateur-proie (protozoaires-bactéries) dans les sols: role dans la regulation des populations et consequences sur les cycles du carbone et de l'azote. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 25: 1-31.

Culter, D.W. & Bal, D.V. 1926. Influence of protozoa on the process of nitrogen fixation by *Azotobacter chroococcum*. *Ann. Appl. Biol.* 13: 516-534.

Culter, D.W., Crump, L.M., Sandon, H. 1922. A quantitative investigation of the bacterial and protozoan population of the soil, with an account of the protozoan fauna. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 211, 317-350.

Curds, C.R. 1977. Microbial interactions involving protozoa. *Society for Applied Bacteriology, Symposium Series* 6: 69-105.

Darbyshire, J.F. 1972. Nitrogen fixation by *Azotobacter chroococcum* in the presence of *Colpoda steini*. I- The influence of temperature. *Soil Biol. Biochem.* 4: 359-369.

Darbyshire, J.F. 1994. Introduction. In Darbyshire, J.F., *Soil Protozoa*. CAB International, Wallingford. pp.1-4.

Darbyshire, J.F., Davidson, M.S., Chapman, S.J. Ritchie, S. 1994. Excretion of nitrogen and phosphorus by the soil ciliate *Colpoda steinii* when fed the soil bacterium *Arthrobacter* sp. *Soil Biol. Biochem.* 4: 359-369.

- Darbyshire, J.F., Greaves, M.P. 1967. Protozoa and bacteria in the rhizosphere of *Sinapis alba* L., *Trifolium repens* L. and *Lolium perenne* L. *Canad. J. Microbiol.* 13: 1057-1068.
- Edwards, C.A., Fletcher, K. E. 1988. Interactions between earthworms and microorganisms in organic-matter breakdown. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 24, 235-47.
- Flack, F., Hartenstein, R. 1984. Growth of the earthworm *Eisenia foetida* on microorganisms and cellulose. *Soil Biol. Biochem.* 16: 491-5.
- Fenchel, T. 1987. Ecology of protozoa . - The biology of free living phagotrophic protists. Science Tech., Wisconsin.
- Ferrier-Pages, C., Karner, M., Rassoulzadegan, F. 1998. Release of dissolved amino acids by flagellates and ciliates grazing on bacteria. *Oceanologica Acta.* 21: 485-494.
- Foisnner, W. 1987. Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators and guide to the literature. *Prog. Protistol.* 2: 69-212.
- Griffiths, B.S. 1989. Enhanced nitrification in the presence of bacteriophagous protozoa. *Soil Biol. Biochem.* 21, 1045-1051.
- Griffiths, B.S. 1990. A comparison of microbial-feeding nematodes and protozoa in the rhizosphere of different plants. *Biol. Fertil Soils.* 9: 83-88.
- Griffiths, B.S. 1994. Soil nutrient flow. In Darbyshire, F.J. ed., *Soil Protozoa*. CAB International, Wallingford. pp. 65-91.
- Griffiths, B.S., Robinson, D. 1992. Root-induced nitrogen mineralization: A nitrogen balance model. *Plant and Soil.* 139: 253-263.
- Habte, M. Alexander, M. 1978. Mechanisms of resistance of low numbers of bacteria preyed upon by protozoa. *Soil Biol. Biochem.* 10: 1-6.
- 橋本知義. 2000. 土の原生動物のはたらき. In 服部勉 (編). *新・土の微生物(7)*. 博友社, 東京. pp. 55-91.
- Heal, O.W. 1967. Quantitative feeding studies on soil amoebae. In Graff, O., Satchell, J.E. eds., *Progress in Soil Biology*. Friedr. Vieweg & Sohn GmbH, Braunschweig. pp. 120-126.
- Hervey, R.J., Greaves, J.E. 1941. Nitrogen fixation by *Azotobacter chroococcum* in the presence of soil protozoa. *Soil Science.* 51: 85-100.
- Hino, I. 1935. Antagonistic action of soil microbes with special reference to plant hygiene. *Transactions 3rd International Congress of Soil Science, Oxford.* 173-174.
- Hirai, K., Hino, I. 1926. Studies on protozoa. I - Influence of soil protozoa on nitrogen fixation of *Azotobacter*. *Bull. Agric. Chem. Jpn.* 2: 85-86.
- Homma, Y., Sitton, J.W., Cook, R.J., Old, K.M. 1979. Perforation and destruction of pigmented hyphae of *Gaeumannomyces graminis* by vampyrellid amoebae from Pacific North-West wheat field soils. *Phytopathol.* 69: 1118-1122.
- Iijima, M., Griffiths, B.S., Bengough, A.G. 2000. Sloughing of cap cells and carbon exudation from maize seedling roots in compacted sand. *New Phytol.* 145: 477-482
- 石井圭一. 1999. アメーバ図鑑. 堀上英紀, 木原章 (編). 金原出版, 東京.
- Jentschke, G., Bonkowski, M., Godbold, D.L., Scheu, S. 1995. Soil protozoa and plant growth: Non-nutritional effects and interaction with mycorrhizas. *Biol. Fertil. Soils.* 20: 263-269.
- Klemetsson L., Berg P., Clarholm M., Schnurer J. Rosswall T. 1987. Microbial nitrogen transformations in the root environment of barley. *Soil Biol. Biochem.* 19: 551-558.
- Klopper, J.W., Lifshitz, R., Zablutowicz, R.M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnol.* 7: 39-44.
- Kuikman, P.J., van Elsas, J.D., Jansen, A.G., Burgers, S.L.G.E., van Veen, J.A. 1990. Population dynamics and activity of bacteria and protozoa in relation to their spatial distribution in soil. *Soil Biol. Biochem.* 22: 1063-1073.
- Kuikman, P.J., van Veen, J.A. 1989. The impact of protozoa on the availability of bacterial nitrogen to plants. *Biol. Fertil. Soils.* 8: 13-18.
- Lebuhn, M., Heilmann, B., Hartmann, A. 1994. Effects of drying/rewetting stress on microbial auxin production and L-tryptophan catabolism in soils. *Biol. Fertil. Soils.* 18: 302-310.
- Lee, J.J., Hutner, S.H., Bovee, E.C. eds., 1985. *An Illustrated Guide to the Protozoa.*, Society of Protozoologists., Kansas.
- Lee, J.J., Leedale, G.F. Bradbury, P. eds., 2002. *Illustrated guide to the protozoa*, Second edition. Society of Protozoologist, Kansas.
- Levrat, P., Alabouvette, C., Bowen, G.D. 1987. Role des protozoaires dans les systemes interactifs: cas des relations bacteries-champignons. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 24, 503-514
- Levtat, P., Pussard, M. Alabouvette, C. 1989. Action d'*Acanthamoeba castellanii* (Protozoa: Amoebida) sur la production de siderophores par la bacterie *Pseu-*

- domonas putida*. Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Paris 308, ser. III, 161-164.
- Levtat, P., Pussard, M., Alabouvette, C. 1992. Enhanced bacterial metabolism of a *Pseudomonas* strain in response to the addition of culture filtrate of abacteriophagous amoeba. Eur. J. Protistol. 28: 79-84.
- Lynch, J. 1988. Microbes are rooting for better crops. New Scientist. 118: 45-49.
- Margulis, L. 1970. Origin of eukaryotic cells. Yale University Press, New Haven.
- Margulis, L., Corliss, J.O., Melkonian, M. and Chapman, D.J. eds., 1991, Handbook of Protozoa. Jones and Bartlett, Boston.
- Margulis L., Schwartz, K.V. 1988, Five Kingdoms; An illustrated guide to the phyla of life on earth, Second edition. Freeman and Company, New York.
- Martinez, A.J. 1985. Free living amebas: natural history, Prevention, diagnosis, pathology, and treatment of disease. CRC Press, Florida.
- Nikoljuk, V.F. 1965. Pochvennye protistsy Uzbekistana. Izdatrelstvo Akademii, Nauk, Tashkent.
- Pankhurst, C.E. 1997. Biodiversity of soil organisms as an indicator of soil health. In Pankhurst, C., Doube, B., Gupta, V. eds. Biological Indicators of Soil Health. CAB international, Wallingford. pp. 297-324.
- Pussard M., Alabouvette, C., Levtat, P. 1994. Protozoan interaction with the soil microflora and possibilities for biocontrol of plant pathogens. In Darbyshire, F.J. ed. Soil Protozoa. CAB International, Wallingford. pp. 123-146.
- Robinson, D., Griffiths, B.S., Ritz, K., Wheatley, R. 1989. Root induced nitrogen mineralization: A theoretical analysis. Pl. Soil. 117: 185-193.
- Sorokin, Yu.I. 1965. On the trophic role of chemosynthesis and bacterial biosynthesis in water bodies. Mem. Ist Ital. Idrobiol. 18 Suppl.: 187-205.
- 高橋忠夫. 2000. 土の原生動物. In 服部勉 (編). 新・土の微生物(7). 博友社, 東京. pp. 5-54.
- 月井雄二. 1995-2002(継続中). *Stylonychia mytilus* (繊毛虫類)のシスト.  
URL:<http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/PCD0652/htmls/82.html> In 原生生物情報サーバ,  
URL:[http://protist.i.hosei.ac.jp/Protist\\_menu.html](http://protist.i.hosei.ac.jp/Protist_menu.html)
- Vargas, R., Hattori, T. 1990. The distribution of protozoa among soil aggregates. FEMS Microbiol. Ecol. 74: 73-78.
- Verhagen, F.J.M., Duyts, H., Laanbroek, H.J. 1993. Effects of grazing by flagellates on competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in soil columns. Appl. Environ. Microbiol. 59: 2099-2106.
- Verstraete W. 1981. Nitrification in agricultural systems: call for control. In Clark, F.E. Rosswall, T. eds. Terrestrial Nitrogen Cycles, Ecological Bulletins, Stockholm. 33: 565-572.
- Wardle, D.A. 1995. Impact of disturbance on detritus food-webs in agro-ecosystems of contrasting tillage and weed management practices. Adv. Ecol. Res. 26: 105-185.
- Whittaker R.H. 1969. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. Science. 163: 150-160.
- 吉村裕之・上村 清・近藤力王至. 1990. 寄生虫学新書. 吉村裕之 (編). 文光堂, 東京.
- Zwart K.B., Kuikman, P.J., van Veen, J.A. 1994. Rhizosphere protozoa: their significance in nutrient dynamics. In Darbyshire, F.J. ed. Soil Protozoa. CAB International, Wallingford. pp. 93-121.

Title: Soil Protozoa in Rhizosphere

Author: Satoshi SHIMANO