

土壤生態系を評価するための線虫群集指数

農業環境技術研究所生物環境安全部 **岡田 浩 明**

はじめに

植物加害性線虫の調査で土壤をバールマン装置にかけると、必ず自由生活性線虫（図-1の中の植物食以外のもの）が多数検出される。こうした線虫は害虫防除という視点からは無視されるか、「雑線虫」として十把一絡げに扱われることがほとんどである。しかし、欧米ではこうした「雑線虫」の研究が土壤生態学や環境科学の中で重要視されている。土壤生態学で重要とされる理由は、自由生活性線虫の中でも多数を占める微生物食性線虫が、餌の細菌や糸状菌を摂食し、これら微生物の増殖を刺激して土壤有機物の分解を促進し、また、微生物体内に蓄積された窒素をアンモニアなど無機態の形で排出し、植物が利用可能な土壤養分を増加させる働きがあるためである（INGHAM et al., 1985；岡田, 2002）。環境科学で「雑線虫」の研究が重視される理由は、それらがあらゆる土壤環境（そして淡水や海水域にも）に生息する多細胞動物で、物理的・化学的かく乱などに反応する生物指標として有望なためである（BONGERS, 1990；RITZ and TRUDGILL, 1999）。実際、欧米では農業や重金属による土壤の汚染、土壤肥沃度、生態系構造の発達具合などを評価する指標としての研究が盛んである。主な研究手法には二つあり、一つは、他の生物群でも行われているものと同じで、特定のかく乱要因に反応する線虫分類群を多変量解析によって抽出するものである（FISCUS and NEHER, 2002）。もう一つは線虫学独自の手法で、互いに生理生態的特性が異なる自由生活性線虫分類群の出現頻度（群集構造）に基づいた各種指数の算出によってかく乱程度などを評価するものである。線虫群集のデータがあればどちらの手法も使えるので、両者をともに用いた研究が多い。本稿では、まず土壤環境の生物指標としての線虫の長所を説明する。次いで、生態系の状態や機能を評価するための線虫群集指数について、土壤くん蒸した畑や不耕起栽培畑での筆者らの研究を紹介しながら解説する。

I 土壤環境指標としての線虫の長所

長所として次のような特徴が挙げられる。(1) 1g

Nematode Community Indices to Evaluate Soil Ecosystem Status and Function. By Hiroaki OKADA

(キーワード: cp群, 自由生活性線虫, かく乱, 機能群, Maturity Index, 食性群)

の土壤から20頭以上検出されるなど生息密度が高く、少量の土壤から多数の個体数を得ることができる、(2) 昆虫に匹敵するほど種数が多く、環境要因への反応が分類群によって異なる、(3) 体が小さく、サンプルの保管が容易で場所をとらない、(4) 土壤をティッシュペーパーで包んで一晩水に浸漬するなどの簡易な操作でも土壤から抽出できる、(5) 分類群ごとに細菌食、糸状菌食、植物食、肉食性等に細かく分かれ、その違いが口器の形などによって判別しやすい(図-1)、(6) 食性を異にするグループ(食性群)が、土壤生態系において微生物より高次の様々な栄養段階に分布し、線虫群集の構造から生態系の構造を推定しやすい、(7) 成虫と幼虫の形態および生態(食性など)がほぼ同じなので、個体群の年齢構成によらず種類の同定や食性の推定が可能、(8) 同じ食性群の中にも生活史戦略が異なり環境要因への反応が異なる分類群が存在するので、機能群(functional guild, 後述)を定義できる、(9) 移動能力が低いので、各分類群の多少が生息土壤の環境を直接反映する、(10) 密度の増減はあるが、季節によらず採集できる、(11) 耕起など物理的にかく乱に耐える分類群も多く、単年作物畑から草地、森林までの幅広い土壤環境にいずれかの分類群が生息する、(12) 本来水生生物であり、土壤粒子間の水フィルム中に生息するため化学物質に反応しやすい。また、海洋や河川にも生息し水系の指標としても使える、(13) 細胞系譜や遺伝子情報の蓄積が豊富で、多細胞動物のモデルとして医学や理学の分野で著しく研究が進んでいるため、環境要因のヒトへの影響を予測、解析するために利用できる。

以上の特徴のうち、(5)~(8)、(13)は他の土壤動物

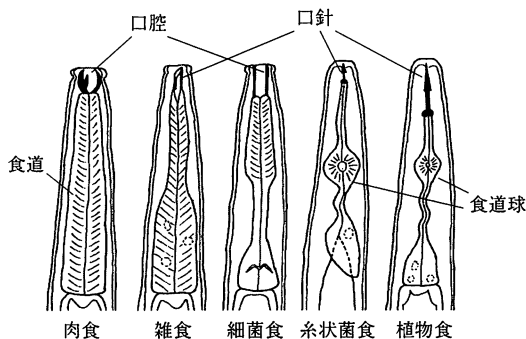


図-1 土壤中に生息する代表的な線虫の前半身と食性 (岡田(2002)より改変)

(ダニやミミズ)や微生物ではなく、線虫独自のものである。

II Maturity Index

線虫は土壤環境の指標として先に挙げたような優れた特徴をもつが、1980年代までの指標(指数)化研究は、線虫全体の密度で土壤肥沃度を推定したり、細菌食性群/糸状菌食性群の密度比で細菌/糸状菌のバイオマス比を推定しようとする単純なものであった。しかし、1990年になると、生態学的特性に基づく重み付けを各分類群に与えて計算する指数が提案された。この指数は Maturity Index (以下 MI) と呼ばれ、土壤生態系への物理的・化学的かく乱の程度、あるいはかく乱からの回復具合を、r および K 戦略者の線虫の割合によって評価しようとするものである (BONGER, 1990)。ここでは colonizer-persister (r-K 戦略とほぼ同じ概念) の系列での位置により、線虫の各科を cp1 から cp5 群までのいずれかに入れ (表-1)、各群に 1 から 5 までの整数値を重み付けとして与えて下記の計算を行う。

$$MI = \sum f(i)v(i)$$

ただし、 $f(i)$ は科 i の出現頻度、 $v(i)$ はその重み付け値。

例えば、耕起直後の畑で極端な colonizer (cp 1) の線虫しかいない場合は $MI = 1$ 、そこへ徐々に他の線虫が侵入、増殖すると MI は増加し、不耕起畑では 3 程度になる。植物食性線虫は餌植物の存在に大きく左右され、土壤中の環境要因を直接反映しないとの理由で除外され、 MI の計算では自由生活性線虫のみを用いる。しかし、自由生活性とは異なる仕方では環境変化に反応するだろうとの理由で、植物食性線虫も cp 群に割り振り (表-1)、 MI と同様に計算する指数が Plant Parasite Index

(PPI) として提案されている。このほかにも、 MI には様々なバリエーションが提案されている (表-2)。単純な整数値を重み付けとして用いた MI だが、欧米の様々な土壤環境で試用され、薬剤散布や耕起などによるかく乱の影響をよく反映することが認められている (表-3)。これによると、くん蒸処理を行った土壤の線虫群集では MI 値が低下することが報告されている。しかし、筆者らがクロロピクリンでくん蒸したダイズ畑の線虫群集について MI を計算したところ、くん蒸区の方が無処理区より値が増加していた (図-2)。この試験圃場では前年秋に緑肥のすき込みを行っていた。このように、有機物の投入を伴う物理的かく乱が起こると土壤中の微生物量が一時的に増加するが、そのような環境では cp1 群の細菌食性線虫 (Ba1) が短期間で著しく増殖することが知られている。今回使用した圃場でも Ba1 群が優占し、くん蒸前の MI 値を下げていた。そのため、くん蒸により Ba1 群が激減した後、化学物質への耐性が比較的強いとされる cp2 群の細菌食性線虫 (Ba2) がいち早く密度を回復し、くん蒸区での MI 値を増加させたことが従来の報告と異なる結果になった原因だと考えられる。今回のように Ba1 群の線虫が優占している状況では、かく乱で値が減少することを前提とした MI を使った環境評価では誤解を招く。このような場合でも適切な環境評価ができるようにと提案された指数が MI_{25} である (表-2)。筆者らの結果では、この指数は無処理区では徐々に増加したが、くん蒸区では 2 付近にとどまっていた (図-2)。これは、かく乱に弱いとされる線虫が無処理区で徐々に増加したのに対し、くん蒸区ではなかなか増加しなかったためと考えられ、くん蒸処理が線虫群集に与える影響を MI よりも適切に評価していると考えられる。

表-1 線虫各科の cp 群, 食性群, 機能群への振り分け (BONGERS and BONGERS (1998) および YEATES et al. (1993) をもとに一部の科についてのみ表示)

自由生活性群	cp群	食性群(略号)	機能群	植物食性群	cp群
Bunonematidae	1	細菌食 (Ba)	Ba1	Ecphyadophoridae	2
Diplogasteridae	1	細菌食 (Ba)	Ba1	Paratylenchidae	2
Rhabditidae	1	細菌食 (Ba)	Ba1	Tylenchidae	2
Aphelenchoididae	2	糸状菌食 (Fu)	Fu2	Criconematidae	3
Aphelenchidae	2	糸状菌食 (Fu)	Fu2	Heteroderidae	3
Cephalobidae	2	細菌食 (Ba)	Ba2	Meloidogynidae	3
Diphtherophoridae	3	糸状菌食 (Fu)	Fu3	Pratylenchidae	3
Prismatolaimidae	3	細菌食 (Ba)	Ba3	Trichodoridae	4
Tripyliidae	3	肉食 (Ca)	Ca3	Longidoridae	5
Dorylaimidae	4	雑食 (Om)	Om4		
Leptonchidae	4	糸状菌食 (Fu)	Fu4		
Mononchidae	4	肉食 (Ca)	Ca4		
Actinolaimidae	5	肉食 (Ca)	Ca5		
Thornematidae	5	雑食 (Om)	Om5		

また、次章で解説する指数のうち生態系構造の発達具合を評価する Structure Index (SI) についても計算したところ、くん蒸区と無処理区での値の変化は各々 MI25 のそれと同じ傾向だが、両区間の違いがより明瞭になった(図-2)。

表-2 MI の改変バージョン

MI25	cp1 の線虫は短期間のかく乱にも反応、増殖するので、この群を入れるオリジナルの MI では生態系の長期的な状況を評価できないとの理由で、cp1 を除いて計算する MI.
ΣMI	植物食性群も自由生活性群と同様に土壤環境の変化に反応するとの考えから、前者も含めて計算する MI.
ΣMI25	cp1 の線虫を除いて計算する ΣMI.

表-3 土壌のかく乱または安定化要因に対する線虫群集指数の反応 (NEHER (2001) より改変)

		MI などの値の増減
かく乱の 要因	耕起	MI ↓, ΣMI ↓, ΣMI25 ↓, PPI ↓または↑
	有機物, 化学肥料投入	MI ↓, ΣMI25 ↓, PPI ↑
	石灰投入	MI ↓
	くん蒸剤使用	MI ↓, ΣMI ↓, PPI ↓
	除草剤, 殺虫剤の使用	MI25 ↓
	重金属汚染	MI ↓, MI25 ↓, ΣMI ↓, ΣMI25 ↓
	フェナントレン汚染 ベンゾピレン汚染	ΣMI ↓ ΣMI25 ↑
安定化の 要因	1年生作物から多年生作物へ転換	MI ↑, ΣMI ↑, PPI ↑
	牧草地の成熟化	MI ↑
	単作から混作へ転換	MI ↑

III Enrichment, Structure, Channel Index

今世紀に入って、新たな三つの指数が提案された。cp 群と食性群を組合せて機能群を定義し(表-1)、その出現頻度から土壤生態系の様子をより具体的に推定しようというものである (FERRIS et al., 2001)。ここでは、土壤環境は肥沃度および生態系の構造化程度の二次元で表現でき、養分が乏しく物理的かく乱が激しい砂漠のような土壤では Ba2 や Fu2 の線虫しか生存できないが、養分が増えると Ba1 が増加し、かく乱が減少すると cp3, 4, 5 のグループが増加するとの仮定に基づいている(図-3)。各機能群の重み付けは、その機能群に所属する線虫の平均的なバイオマスおよび増殖速度、その機能群が存在する場合に期待される生物間関係の数 (COHEN, 1989; MARTINEZ, 1992; FERRIS et al., 2001) などを根拠に、MI の場合より客観的なものが提案され、0.8, 1.8, 3.2, 5.0 などの値をとる。その値と機能群の出現頻度とに基づき Enrichment Index (EI) と Structure Index (SI) を計算するが、それにはまず、図-3 で示した土壤環境の基本状態、肥沃化程度、生態系の構造化程度を評価する basal (b), enrichment (e), structure (s) の三つのコンポーネントの算出が必要である。例えば、

$$b = \sum kn$$

などとなる。ただし、 k は各機能群に与えられた重み付け値、 n は機能群中の線虫個体数である。また、計算に含む機能群の種類はコンポーネントによって異なる。

以上の結果に基づき、

$$EI = e/(e + b) \times 100$$

$$SI = s/(s + b) \times 100$$

などと計算する。また、Ba1 と Fu2 の出現頻度に基づいて Channel Index (CI) という指数を下記の式によって計算する。

$$CI = 0.8Fu2/(3.2Ba1 + 0.8Fu2) \times 100$$

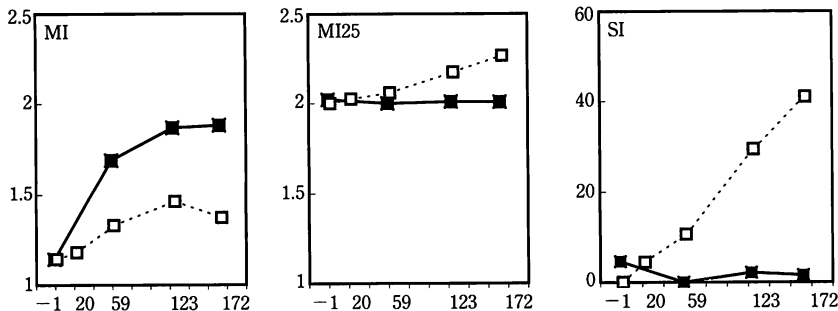


図-2 ダイズ畑をクロルピクリンでくん蒸したときの線虫群集指数の変化

実線がくん蒸区、点線が無処理区。3 反復の平均値で示す。横軸は処理後の経過日数で-1 は処理前日を示す。線虫密度が低すぎて、処理 20 日後のくん蒸区では指数が算出できなかった。OKADA et al. (2004) より改変。

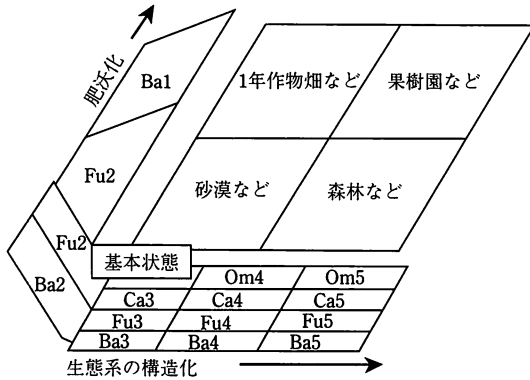


図-3 肥水化と生態系の構造化の二次元による土壌環境の表現 (FERRIS et al. (2001) より改変)

EIは土壌肥沃度が高いと大きくなるとされているが、実際には、養分投入によるというより、耕起などのかく乱で既存の土壌有機物の分解が進み、一時的に土壌養分が増加した状態を反映するといわれている。SIは環境が安定し(かく乱が減少し)生態系構造が複雑になる場合に、また、CIは有機物の分解が、細菌よりも糸状菌によって行われている場合に値が大きくなるように考案されている。筆者らは不耕起畑と耕起畑とで土壌生態系の様子を比較するため、線虫群集を調査してこれら三つのIndexの値を算出した(岡田ら, 2004)。不耕起畑の土壌環境の特徴として、(1)有機物の分解が遅い、(2)有機物の分解では細菌よりも糸状菌が主役になる、(3)生態系の構造が発達、複雑になることが知られている(Fu et al., 2000; 金沢, 1995; YOUNG and RITZ, 2000)。はたしてIndexの値は、年次や季節により多少異なるが、EIが不耕起<耕起、CIが不耕起 \geq 耕起、SIが不耕起>耕起となり、各々が上記(1)~(3)の不耕起畑の特徴をおおむね反映することがわかった。なお、MIおよびMI 25の値も不耕起>耕起となり、SI同様、不耕起で生態系構造が発達していることを示した(岡田ら, 2004)。

残念ながら筆者らの仕事では、FERRIS氏らの三つのIndexが実際に土壌肥沃度や微生物組成などを適切に反映するか否かまでは検討できなかった。しかし、現在世界の線虫生態学者がこれらIndexの妥当性を様々な土壌環境で検討している。

おわりに

ドリフトなどによる農耕地周辺環境への農薬の影響には従来から社会的関心が高かったが、2003年の土壌汚

染対策法制定以来、住宅地や工場跡地の土壌残留化学物質の問題にも世間の関心が高まっている。しかしながら、水界生態系や水生生物への化学物質のリスク評価に比べ、土壌生態系や土壌生物への評価は国内では遅れている。こうした中、線虫群集の指数は土壌生態系の指標として有望であるように見える。しかし、問題点も少なくない。指数の計算は各分類群の繁殖戦略や食性の違いに基づくが、そもそもこうした生態的特性の情報が不十分であるとの批判がある(YEATES, 2003)。例えば、微細な口針をもつティレンクス科の線虫は様々な土壌に出現し、線虫群集でしばしば優占するが、糸状菌食者としてMIの計算に含む研究者がいる一方、植物食者としてMIから除外する研究者がいるなど、食性群への振り分けが統一されていない。これについて筆者は、ティレンクス科が糸状菌食性を示す証拠を提示したが(OKADA et al., 2005)、ほかにも、かく乱に弱いとされるcp5のある種の線虫がかく乱の激しい耕起畑に頻繁に出現してMIの値を増加させるなど、線虫の生態情報の不足(誤り?)のため解釈に悩む場合がある。また、土壌型が異なり土着の線虫相が異なる調査地点間の比較には線虫の指数は使えないといった問題点もある。

線虫群集指数には上記のような問題点があるものの、適用場面や結果の解釈に注意しながら、線虫を使った土壌環境評価手法の一つとして用いられたいのではないだろうか? ただし、各分類群の生理生態的特性の情報を追加し、必要に応じて修正、改変するなど指数の精度を高める必要がある。

参考文献

- 1) BONGERS, T. (1990): *Oecologia* 83: 14 ~ 19.
- 2) ——— and M. BONGERS (1998): *Appl. Soil Ecol.* 10: 239 ~ 251.
- 3) COHEN, J. E. (1989): ROUGHGARDEN, J. et al. Eds., *Perspectives in Ecological Theory*, Princeton Univ. Press, p. 181 ~ 202.
- 4) FERRIS, H. et al. (2001): *Appl. Soil Ecol.* 18: 13 ~ 29.
- 5) FISCUS, D. A. and D. A. NEHER (2002): *Ecol. Appl.* 12: 565 ~ 575.
- 6) FU, S. et al. (2000): *Soil Biol. Biochem.* 32: 1731 ~ 1741.
- 7) INGHAM, R. E. et al. (1985): *Ecol. Monogr.* 55: 119 ~ 140.
- 8) 金沢晋二郎 (1995): *日土肥誌* 66: 286 ~ 297.
- 9) MARTINEZ, N. D. (1992): *Am. Nat.* 139: 1208 ~ 1218.
- 10) NEHER, D. (2001): *J. Nematol.* 33: 161 ~ 168.
- 11) 岡田浩明 (2002): *根の研究* 11: 3 ~ 6.
- 12) ——— (2004): *日線虫誌* 34: 113.
- 13) OKADA, H. et al. (2004): *Jpn. J. Nematol.* 34: 89 ~ 98.
- 14) ——— (2005): *Soil Biol. Biochem.* 37: 1113 ~ 1120.
- 15) RITZ, K. and D. L. TRUDGILL (1999): *Plant Soil.* 212: 1 ~ 11.
- 16) YEATES, G. et al. (1993): *J. Nematol.* 25: 315 ~ 331.
- 17) ——— (2003): *Biol. Fertil. Soils.* 37: 199 ~ 210.
- 18) YOUNG, I. M. and K. RITZ (2000): *Soil Tillage Res.* 53: 201 ~ 213.