

身近な森から広がる線虫研究

北上 雄大*

三重大学生物資源学研究科

Nematode studies spreading from our familiar forests

Yudai KITAGAMI*

Graduate School of Bioresources, Mie University, 1577 Kurimamachiya, Tsu, Mie, 514-8507, Japan

Abstract

Few people recognize activities of soil organisms under their feet. In this brief commentary, I focused on the “Nematoda” that I am studying among many soil organisms. I introduce the life style of soil nematodes in coastal forests as one of our familiar forests.

Key Words: Coastal pine forest; Microbes; Microscopic observation; Pine cone; Soil

土の中の小さな生き物たちー線虫

森を歩く時に自分の足元にいる生物の営みを想像する人は少ない。地面の落ち葉をひっくり返すと、ミミズやダンゴムシといった土壌動物が見られる。さらに目を凝らすと、米粒よりも小さな、トビムシやダニが見ることができる。それらよりもさらに小さな、線虫（センチュウ）や微生物（細菌、カビ）は顕微鏡でようやく見ることができる（図1）。大きさは様々であるが、これら土壌生物は落ち葉を食べて分解することで土に養分を返し、樹木が根からその養分を吸収することで豊かな森の成立に貢献している。つまり、土壌生物は縁の下の力持ちのような存在である。本稿では森に住む土壌生物、特に筆者が研究対象としている「線虫」に着目し、身近な森に住む線虫の生態を筆者の実体験を交えながら紹介していく。

線虫は、ミミズに似て細長い形だが、ずっと小さな体長1 mm程度の極小な動物である。全世界の土壌に潜む線虫の推定個体数は4.4 垓（がい、

$\times 10^{20}$ 、兆の百万倍）と莫大で、総重量も約3億トンとヒトの総重量の約4億トンに匹敵すると言われている¹⁾。線虫は地上のあらゆる環境に出現し、環境適応力が高く極限環境でも生息する。例えば、南極大陸²⁾、地下3600 mの金鉱³⁾や温泉⁴⁾でも線虫は生きていける。線虫は口部の形から細菌食性、真菌食性、植物食性、肉食性、雑食性と5つの機能群に大別され⁵⁾、土壌食物網で重要な地位を占める。土壌食物網において線虫は、さまざまな生物との「食う」、「食われる」の関係を持ち（図2）、主に細菌やカビを摂食し、微生物の数を調整することから物質循環に重要な生物群として認識されている⁶⁾。そのため、それぞれの場所における線虫の種類とその豊富さは物質循環の複雑さを示す生物指標になり、森林管理の評価に利用されている⁷⁾。

筆者が線虫を初めて目にしたのは、大学2年生時に受けた森林微生物生態学という森に住む微小な生き物に関する講義であった。講義を通して線虫に興味を持ち、3年生で所属した研究室で線虫

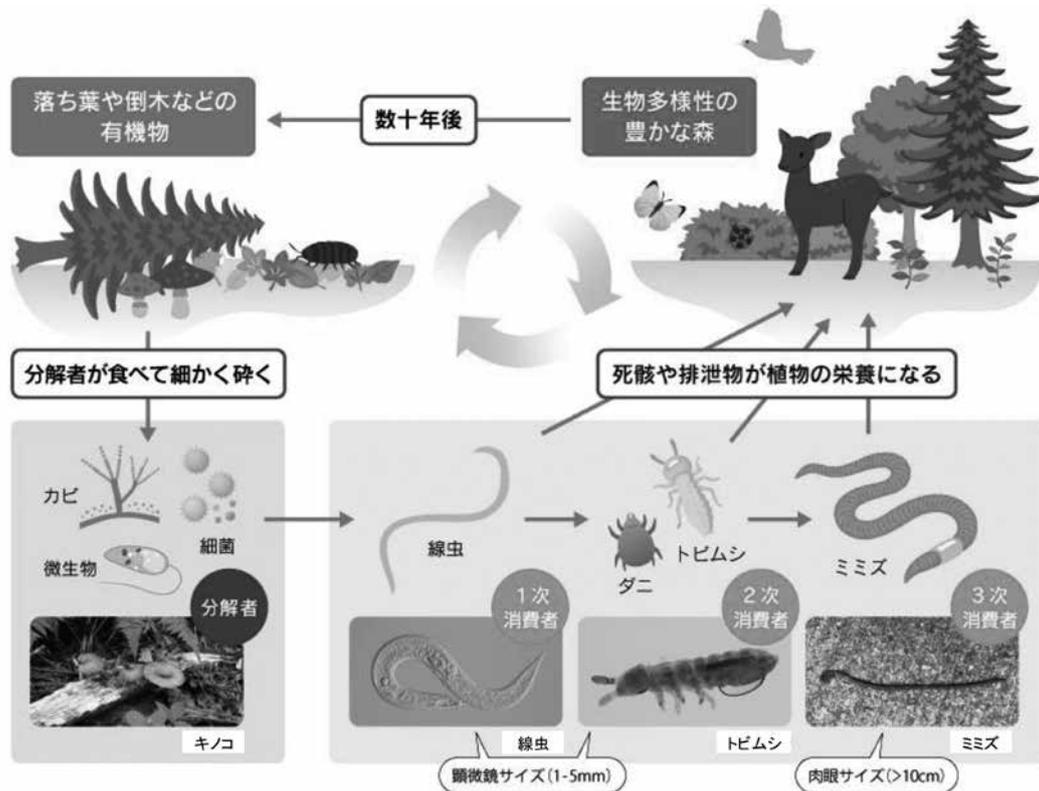


図1 森林における物質循環の概念図

土壌生物の営みは豊かな森の成立に貢献している（三重大学環境報告書 2020¹⁷⁾より）。豊かな森から数十年後に発生する倒木は土壌生物によって分解され、植物の栄養になることで豊かな森が維持され続ける。

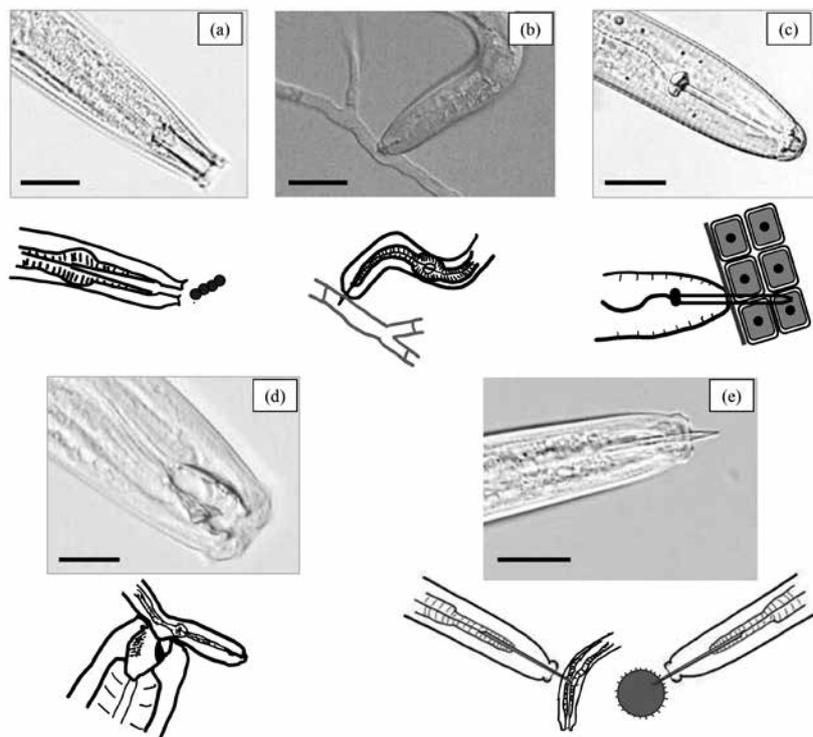


図2 線虫の口部形態に基づく食性

(a) 細菌食性：筒状の口部を有し、細菌を摂食する。(b) 真菌食性：微細な口針を有し、菌糸を摂食する。(c) 植物食性：丈夫で大きな口針を有し、植物根を摂食する。(d) 肉食性：口部が広く鋭い歯を有し、小型の線虫を摂食する。(e) 雑食性：中空構造の口針を有し、小型の線虫や藻類を摂食する。食性は Yeates et al.(1993)⁵⁾ に従った。写真のバーは全て 20 μm を示す。

の研究を希望した。しかし、森林土壌における線虫群集研究は筆者が着手し始めた2014年時点で広葉樹林を対象にした1例のみ⁸⁾と、国内の線虫群集の実態は全く未解明であった。そのため、森林に生息する線虫群集の解明の出発地として、大学近くに成立する「海岸林」に着目した。

私の研究のはじまり：海岸林の線虫研究

私が拠点とする生物資源学部棟から徒歩10分のところに町屋海岸があり、沿岸部には海岸林が続いている(図3)。海に囲まれた日本の大学の中でも、ちょっと歩いて海岸にまで行きつくことのできる大学はそうそうない。この海岸林はクロマツから成る単純な森林生態系であり、その土台となっている砂質土壌は有機物が少なく生息する線虫種は少ないことが予想された。このような単一樹種からなる純林は地上部植生と地下部線虫群集との関連づけが容易と想定され、線虫群集の特性を表すモデルになると考えた。さらに、研究を進めるにあたり、対象とする生物種をある程度覚える必要がある。初学者の筆者にとっては、

線虫種が少ないと考えられ、アクセスしやすい海岸林は、研究の取り掛かりとして最適であった。以上のような経緯で、卒業研究は町屋海岸のクロマツ林土壌で線虫群集を明らかにすることに決定した。そのため、海岸林にいくつか調査区を設け(その内1つは調査中に護岸工事で消失した)、春夏秋冬の季節ごとに線虫の種類や個体数を調べた。土壌からの線虫分離はベルマン法という抽出方法を用いた(図4)。これは土壌を水につけておくことで土壌中の線虫が水に泳ぎだす習性を利用し、ロートの下に設置した小ビンに集まる線虫を回収するという方法である。ベルマン法は簡便であることから、現在でも世界中でもっとも広く利用されている線虫分離法である⁹⁾。土壌100g当たり(両手いっぱいぐらい)から300頭前後の線虫が分離され、多いときは1000頭を超えることもあった。回収された線虫は顕微鏡下で個体数をカウントし、その後は線虫の検索表を片手に線虫の名前を調べるという作業をひたすら繰り返した。筆者が想像していた、白衣を着ながらプラスチック片手に実験という大学での研究像とは程遠く、白衣は器具の洗い物の時にだけ着ていた。しかし、

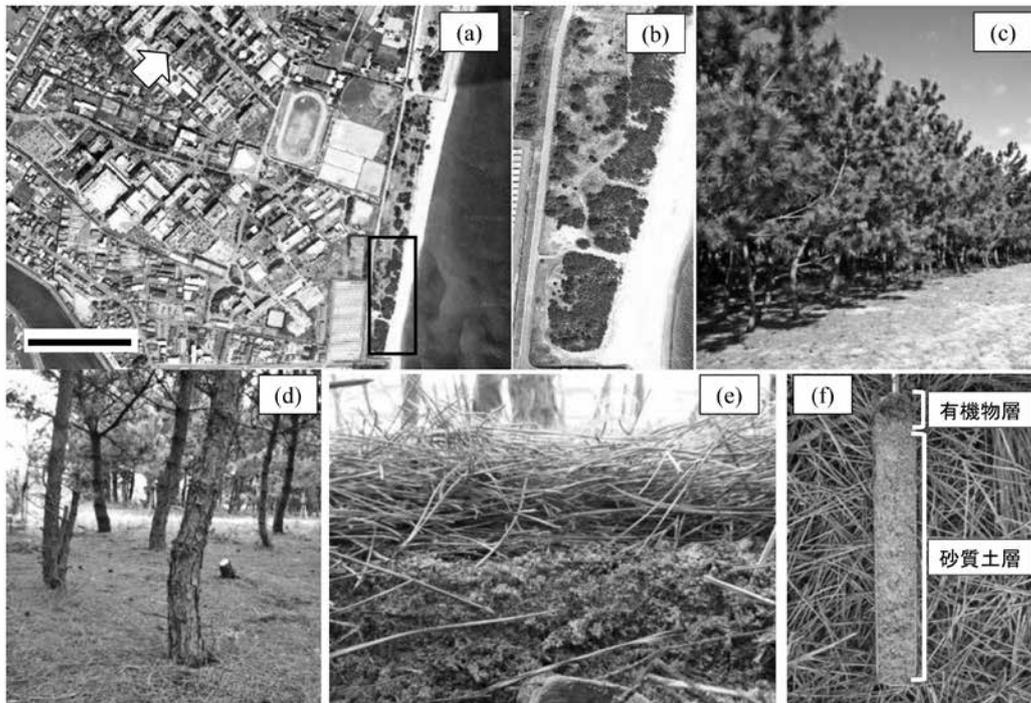


図3 海岸林の様子

(a) 三重大学の航空写真。矢印は生物資源学部棟、黒枠は調査林分、バーは200mを示す。(b) 調査林分の拡大図。(c) 沿岸部に成立する町屋海岸のクロマツ林。(d) クロマツ林内の様子。(e) クロマツ林床の様子。落ち葉が層状に積み重なっている。(f) 表層から深さ20cmまでの土壌を採取した様子。薄い有機物層が形成されている。

黙々と作業することを好む筆者にとって、日々顕微鏡を覗くことは嫌ではなかった。1年間線虫を調べた結果、海岸林からは18分類群の線虫が見られた¹⁰⁾。これは内地の広葉樹林(例えば Niwa et al. 2008⁸⁾で30分類群)に比べ線虫の種多様性は低く、予想通り単純な群集構造になっていることが示唆された。さらに、機能群別の割合を見てみると、1年を通してカビを食べる真菌食性線虫が7割以上と優占していた¹⁰⁾。通常、森林土壌では細菌食性や植物食性の線虫が優占的である¹⁾。クロマツ針葉は分解しづらい多糖類を多く含むため、海岸林では未分解のクロマツ針葉で地面が覆われている。このような環境では難分解性の落ち葉を分解できる腐生菌など真菌が優占的になる。さらに、クロマツの根には菌根菌という共生微生物が定着しており、海岸クロマツ林では9割を超える根にこの菌根菌が定着している¹¹⁾。線虫は腐生菌や菌根菌から伸びる菌糸を食べて増殖することが知られている¹²⁾。これらより、海岸林では真菌が豊富に存在するため、それを餌とする真菌食性線虫が優占していることが考えられた(図5)。このように小さな成果ではあるが、卒業研究を通じ身近な海岸林の線虫を調べることで、世の中に新たな知見を提供することができた。

こんな場所にも線虫が：マツボックリの線虫

卒業研究を行う傍ら、海岸林を調査していると、地面には数多くの球果(マツボックリ)が目についた。ある時、球果を持ち帰り、ベルマン法にかけて線虫がいるどうかを確認してみた。すると、数頭の線虫が泳いでいることが確認された。線虫がいるように思えないぐらいカラカラに乾いた球果であったので、とても驚いた。過去の文献を調べてみると、どうやらマツの落ち葉や樹皮にも線虫が存在しているらしい¹³⁾。面白そうだと思い、修士課程に進んでから、球果にはどんな線虫がいるのか詳しく調べてみることにした。今回は海岸林に加え、内地のクロマツ林でも調査を行なった。三重県、愛知県、奈良県、和歌山県を含む6調査地のクロマツ林から球果を採取した(図6)。合計で68個の球果から線虫分離を試みたところ、63個(93%)から線虫が分離され、ほとんどのクロマツ球果には線虫が定着していることがわかった¹⁴⁾。さらに、どんな線虫がいるのか顕微鏡観察とDNA解析を行ってみると、細菌食性線虫(*Panagrolaimus* 属)の仲間が多く見られた。この線虫は乾燥に強いことが知られており¹⁵⁾、乾燥にさらされやすい球果の環境にうまく適応でき

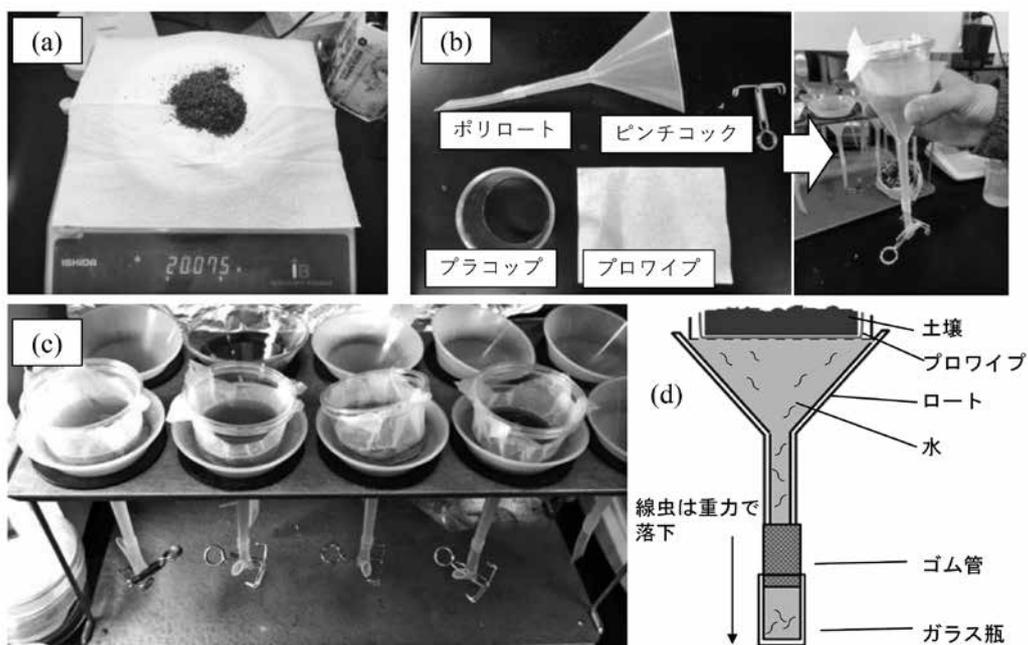


図4 土壌からの線虫分離の様子

(a) 電子天秤で土壌の質量を計測。(b) ベルマン漏斗の組み立て。(c) ベルマン法で土壌から線虫を分離する様子。(d) ベルマン法の概念図。

ていることが考えられた。地上部で見られる線虫種の多くは乾燥耐性を持ち¹⁶⁾、厳しい環境にも耐えられる重要な性質であることが考えられる。球果で見られた線虫種は、土壤に生息している種とは異なったことから、それぞれの生息環境ごとに特徴的な線虫群集が形作られていることが示唆された。

広がる線虫研究

海岸林を出発地として始めた私の線虫研究の対象は、博士課程から現在までにスギ人工林や広葉樹林まで広がり、延べ7年間で国内外を含む22地域に達した(図7)。研究を始めた当初は、ここまで色々な場所に訪れることになるとは思いも

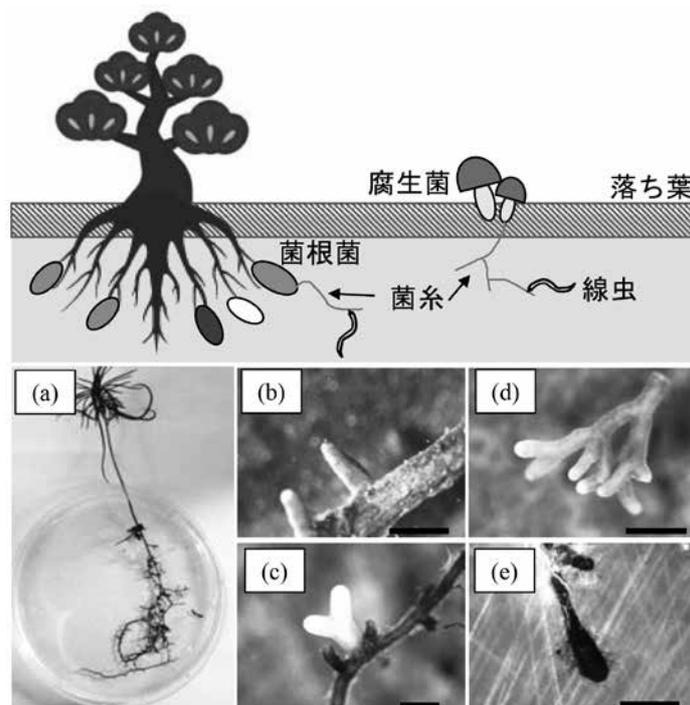


図5 海岸クロマツ林の土壤における線虫と真菌との「喰う」「喰われる」の関係の概念図
線虫は土壤中に広がる菌糸を摂食する。(a)クロマツ実生。(b)クロマツの非菌根。(c)クロマツの白色菌根。(d)クロマツの茶色菌根。(e)クロマツの黒色菌根。写真のバーは全て1mmを示す。

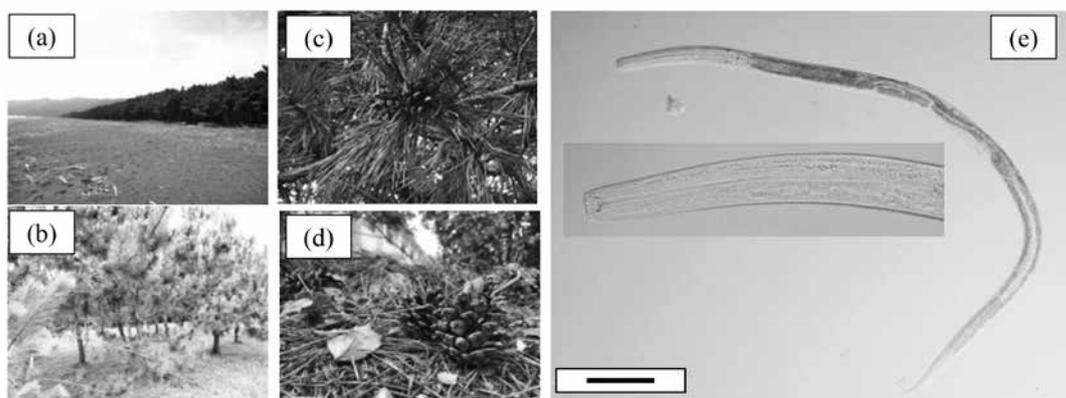


図6 クロマツ球果採取の様子

(a)和歌山県煙樹ヶ浜海岸クロマツ林。(b)和歌山県田辺市の内地クロマツ林。(c)樹上の球果。(d)林床に落下した球果。(e)細菌食性 *Panagrolaimus* 属の線虫。バーは100µmを示す。

しなかった。森に住む線虫は何種類いるのか（種多様性）、あるいは何をしているのか（生態）は、まだ多くの謎に包まれている。これは、微小で人目につかないため、研究対象として見過ごされてきたことが主な原因だと考えられる。しかし、近年の環境 DNA 解析などの技術進歩で、目に見えない生物の多様性や生態を調べることが可能となっており、線虫を含む小さな生物の重要性が明るみになりつつある。本稿を通して、私たちの足元で生活している土壌生物に少しでも興味を持ってもらえると幸いである。

謝 辞

本原稿を執筆するにあたり、同研究科の松田陽介博士にはご助言をいただきましたことに御礼申し上げます。

要 約

森を歩く時に土壌生物の営みを想像する人は少ない。本稿では森に住む土壌生物の中で筆者が研究対象としている「線虫」に着目した。身近な森



図7 2014年から2020年間に筆者が訪れた調査地。

として海岸林を挙げ、筆者の実体験を通してそこに住む線虫の生き様を紹介する。

引用文献

- 1) van den Hoogen, J., S. Geisen, D. Routh, H. Ferris, W. Traunspurger, D.A. Wardle, R.G.M., de Goede, B.J. Adams, W. Ahmad, W.S. Andriuzzi, R.D. Bardgett, M. Bonkowski, R. Campos-Herrera, J.E. Cares, T. Caruso, L. de Brito Caixeta, X. Chen, S.R. Costa, R. Creamer, J. Mauro da Cunha Castro, M. Dam, D. Djigal, M. Escuer, B.S. Griffiths, C. Gutiérrez, K. Hohberg, D. Kalinkina, P. Kardol, A. Kergunteuil, G. Korthals, V. Krashevska, A.A. Kudrin, Q. Li, W. Liang, M. Magilton, M. Marais, J.A.R. Martín, E. Matveeva, E.H. Mayad, C. Mulder, P. Mullin, R. Neilson, T.A.D. Nguyen, U.N. Nielsen, H. Okada, J.E.P. Rius, K. Pan, V. Peneva, L. Pellissier, J. Carlos Pereira da Silva, C. Pitteloud, T.O. Powers, K. Powers, C.W. Quist, S. Rasmann, S.S. Moreno, S. Scheu, H. Setälä, A. Sushchuk, A.V. Tiunov, J. Trap, W. van der Putten, M. Vestergård, C. Villenave, L. Waeyenberge, D.H. Wall, R. Wilschut, D.G. Wright, J. Yang, T.W. Crowther: Soil nematode abundance and functional group composition at a global scale. *Nature*, **572**, 194-198 (2019)
- 2) Adams, B.J., D.H. Wall, U.Ĝ.U.R. Gozel, A.R. Dillman, J.M. Chaston, L.D. Hogg: The southernmost worm, *Scottinema lindsayae* (Nematoda): diversity, dispersal and ecological stability. *Polar Biol.*, **30**, 809-815 (2007)
- 3) Borgonie, G., A. García-Moyano, D. Litthauer, W. Bert, A. Bester, E. van Heerden, C. Möller, M. Erasmus, T.C. Onstott: Nematoda from the terrestrial deep subsurface of South Africa. *Nature*, **474**, 79-82 (2011)
- 4) Suzuki, A.C., H. Kagoshima, G. Chilton, G.T. Grothman, C. Johansson, M. Tsujimoto: Meiofaunal richness in highly acidic hot springs in Unzen-Amakusa National Park, Japan, including the first rediscovery attempt for Mesotardigrada. *Zool. Sci.*, **34**, 11-17 (2017)
- 5) Yeates, G.W., T.D. Bongers, R.G.M. de Goede, D.W. Freckman, S.S. Georgieva: Feeding habits in soil nematode families and genera—an outline for soil ecologists. *J. Nematol.*, **25**, 315-331 (1993)
- 6) 岡田浩明：第3章 線虫, 「土壤生態学」(金子信博編, 朝倉書店), p.31-44 (2018)
- 7) Kondratow, F., C. Chauvin, C. Villenave, E. Andrieu, A. Brin: Nematode communities after the reintroduction of silver fir in beech-dominated forests. *Eur. J. For. Res.*, **138**, 957-965 (2019)
- 8) Niwa, S., N. Kaneko, H. Okada, K. Sakamoto: Effects of fine-scale simulation of deer browsing on soil micro-foodweb structure and N mineralization rate in a temperate forest. *Soil Biol. Biochem.*, **40**, 699-708 (2008)
- 9) 佐野善一：第10章 線虫の個体群生態学的研究法, 3.1 ベールマン法, 「線虫学実験」(水久保隆之・二井一禎編, 京都大学学術出版), p.192-193
- 10) Kitagami, Y., M. Torii, Y. Matsuda: Characterizations of community and trophic structures of soil nematodes in a coastal Japanese black pine forest. *Nematol. Res.*, **46**, 71-78 (2016)
- 11) 松田陽介・小長谷啓介：第3章 外生菌根菌を通して海岸林の再生を考える, 「菌根の世界」(齋藤雅典編, 築地書館), p.104-139 (2020)
- 12) Ruess, L., E.J.G. Zapata, J. Dighton: Food preferences of a fungal-feeding *Aphelenchoides* species. *Nematology*, **2**, 223-230 (2000)
- 13) de Goede, R.G.M.: Effects of sod-cutting on the nematode community of a secondary forest of *Pinus sylvestris* L. *Bio. Fertil. Soils*, **22**, 227-236 (1996)
- 14) Kitagami, Y., N. Kanzaki, T. Tanikawa, Y. Matsuda: Free-living nematodes associated with pine cones of *Pinus thunbergii* and *P. taeda* at Japanese coastal and inland forest sites. *Nematology*, **21**, 389-400 (2019)
- 15) Aroian, R.V., L. Carta, I. Kaloshian, P.W. Sternberg: A free-living *Panagrolaimus* sp. from Armenia can survive in anhydrobiosis for 8.7 years. *J. Nematol.*, **25**, 500-502 (1993)
- 16) McSorley, R.: Adaptations of nematodes to environmental extremes. *Fla. Entomol.*, **86**, 138-142 (2003)
- 17) 三重大学環境報告書 2020：豊かな森を育む土壤生物：線虫（センチュウ）を通して森をみる, <https://emr.gecer.mie-u.ac.jp/2020/6-6/> 2020年3月29日参照