

総説

日本における土壌原生生物の研究

島野 智之

Satoshi D. SHIMANO

法政大学自然科学センター

〒102-8160 東京都千代田区富士見 2-17-1

要旨

土壌原生生物は、土壌に適応している原生生物の総称である。本稿では、日本における研究から、土壌原生生物の多様性、土壌生態系での原生生物の役割、そして、土壌原生生物の農業上の防除資材としての利用についての研究を紹介する。

キーワード：土壌生態系、根圏、微生物生態、多様性、病害防除

1. 土壌原生生物とは

原生生物の生活には、水の存在が不可欠である。しかし、淡水や海などの永続的に水の存在する環境だけではなく、乾燥を伴う陸上環境にも原生生物を見いだすことができる。土壌から原生生物を報告した先駆的な仕事として引用されるのは Ehrenberg (1838) である。近年においても、土壌に出現する従属性原生生物や微細藻類は、偶発的に土壌から見つかったに過ぎないという見解が主張されることもあるが (服部, 2000)、極端な例として、ナミビアのナミブ砂漠からも多数の新種が報告されるなど (Foissner et al., 2002)、土壌に適応した原生生物の多様性が報告されている (Foissner, 1987, 1997; Finley et al., 1999)。さらに、土壌原生生物の環境指標化も提案されている (Foissner, 1999; 島野, 2014 など)。

土壌に生息する原生生物の多くは、土壌環境の極めて高い乾燥ストレスを生き残るに、休眠シストを形成する。土壌における原生生物の一定体積あたりのバイオマス (休眠シストも含む) の多さは、ときに淡水を凌ぐ。これは、土壌団粒の複雑な間隙に休眠シストが蓄えられているためである (Vargas and Hattori, 1991; Hattori, 1994)。

Vargas and Hattori (1990) は、光学顕微鏡の可視光下で MPN 法 (most probable number method) を用いて、1 g の乾燥土壌 (大人の小指の先ほどの体積) の中に原生

生物の細胞が約 17 万細胞存在すると推定した。その内訳は、アメーバ類：約 123,000 細胞、鞭毛虫類：約 27,300 細胞、繊毛虫類：約 18,910 細胞 (うち、コルポダ類 (*Colpoda* spp.) は 5,720 細胞) で、多くは休眠シスト由来であると考えられる。なお、上述したアメーバ類、鞭毛虫類とは、生態学研究の現場で用いられている便宜的な呼び方であり、単系統の分類群である繊毛虫 (*Ciliophora*) 以外は、実際には多系統である。原生生物の系統に関する詳細は、Adl et al. (2019) あるいは、矢崎・島野 (2020) を参照していただきたい。

原生生物は、湿重量では全土壌動物の 39%、乾燥重量では 12% を占めている (Hausmann et al., 2003)。さらにもっと面白いことに、原生生物は、土壌動物バイオマスで大きな割合を占めるミミズ類の栄養・成長にも重要な役割を担っているようであり (Bonkowski and Schaefer, 1996)、土壌生態系での役割の重要性が推察できる。

さて、土壌環境で、多様性とバイオマスが高い原生生物を表 1 に示す (Geisen et al., 2018)。様々なグループの原生生物において、土壌環境に適応した分類群がみられる。細胞性粘菌などを除けば、高次の分類レベルで土壌に特化している例はそれほど多くはない。

土壌が形成されたのは、オルドビス紀における陸上植物の出現以降である (図 1)。陸上植物は、5 億 1000 万年前ごろに緑藻類から派生し、季節的に乾燥する小さな池などの水辺で陸上化はおこったと考えられている (Raven and Edwards, 2001 など)。また、



Tel/Fax: 03-3264-4142 / 03-3264-4143

E-mail: sim@hosei.ac.jp

Received: 8 November 2020; Accepted: 26 July 2021.

表 1. 土壌環境において多様性とバイオマスが高い原生生物 (Geisen et al., 2018). 分類群名・一般名詞の区別は原典 Fig. 1 のまま (高次分類群は除く).

高次分類群	多様性とバイオマスが高い原生生物
アルベオラータ Alveolata	Apicomplexa (gregarines, colpodelids), Ciliophora (Oligohymenophorea, Phyllopharyngea, Colpodea, Litostomatea, Armophorea, Spirotrichea, Heterotrichea)
リザリア Rhizaria	Thecofilosea, Thaumatomonadida, Euglyphida, glissomonads, cercomonads, vampyrellids, Phytomyxea, Foraminifera
アーケプラスチダ Archaeplastida	chlorophytes, trebouxiphytes
*エクスカバータ Excavata	kinetoplastids, euglenids, heteroloboseans, jakobids
アメボゾア Amoebozoa	corycids, echinamoebids, arcellinids, euamoebids, flamellids, protostelids, fractovitelids, dictyostelids, myxogastriids, thecamoebids, dermamoebids, vannellids, centramoebids, pellitids, himatismenids
オピストコンタ Opisthokonta	fonticulids, Cryptomycota
ストラメノパイル Stramenopiles	amphifilids, bicosoecids, oomycetes, chrysophytes, diatoms

*著者注：現在は用いられていない分類群名。単系統ではない (Adl et al., 2019)。

清川ほか (2014) では完全な陸上植物の出現は 4.2 億年前後と推定している。いずれにしても約 5 億年前の土壌と土壌生態系の形成以降に土壌原生生物 (以下、土壌環境に生息する原生生物の意味で用いる) が出現することになる。真核生物存在の証拠を 21 億年前のグリバニアの化石あるいは 12 億年前の紅藻の化石とすると (図 1) (Keeling et al., 2005 など), 原生生物が多様化した後に土壌環境への適応が起きたことになる。おそらく, 多様な分類群の原生生物が陸上化にともない, それぞれの特徴を活かし土壌環境に適応したため, 動物 Metazoa (近年 Animalia として用いられる: Adl et al., 2019; Giribet and Edgecombe, 2020) や, 有胚植物 Embryophyta (Adl et al., 2019 など) で起きたような陸上での多様な分類群の創出が起ったのであろう。

近年までの土壌生態学における原生生物の機能と役割については島野 (2002, 2007, 2009, 2018), 土壌原生生物の調査法と問題点については島野 (2009, 2018) にまとめられている。また, 最近, 土壌原生生物の研究手法 (Geisen and Bonkowski, 2018) や土壌原生生物研究の概説 (Geisen et al., 2018) が公開され, 極めて現代的

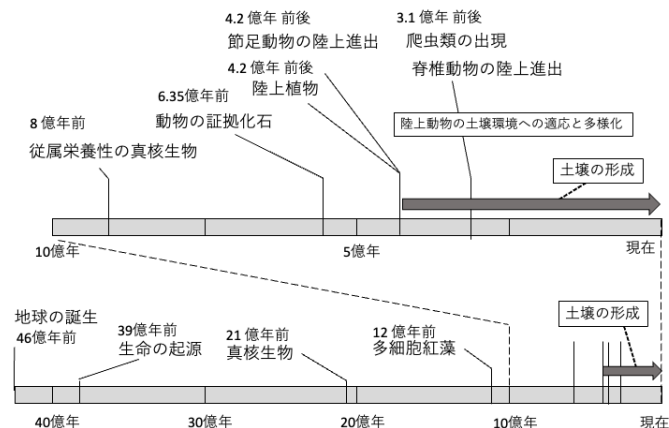


図 1. 地球史における真核生物の出現と土壌の形成, 陸上動物の土壌環境への適応と多様化 (模式年表) (清川ほか, 2014; Sebé-Pedrós et al., 2017; Giribet and Edgecombe, 2020 を参考に作成)。土壌が形成されたのは約 4 億年前だと仮定して, 陸上動物の土壌環境への適応と多様化はそれ以降である。恐竜が出現し昆虫が多様化したのは約 2 億年前である。

な手法もこれらで整理された。次項では, 日本において土壌原生生物がどのように研究されてきたのかを中心に生態学的研究・多様性研究について振り返ってみたい。

2. 土壌原生生物の多様性

筆者の知る限り, 日本における土壌原生生物の多様性に関する報告は, Shibuya (1927) 及び澁谷 (1929) の短い報告が最初である。また, 前述した Ehrenberg (1838) に影響を受け, 世界中から収集した土壌を寒天培地上で培養し, 出現する多様な原生生物群集をまとめた書籍 (Sandon, 1927) の中に日本の原生生物相についての記載もある。

つづいて Suzuki (1954) は, 土壌から得られる *Blepharisma undulans* Stein, 1868 について, 核の形態の変異について分類学的研究を行った。Takahashi (1973) は, 水田のイネの株から繊毛虫を新種として記載した。Berger and Foissner (1989) は, 日本の土壌から得られた繊毛虫について, Bonnet (1977, 1979a, b), Coûteaux (1978) は, 同様に日本の土壌から得られた有殻アメーバについて, 先駆的に新種記載をおこなった。鈴木 (1964a, b, 1981a, b など) は, 日本を中心に様々な環境中 (水圏以外) の原生生物の調査研究をまとめている。

日本の草地土壌に生息する原生生物の生態を観察するために, 分子生物学的手法に基づいた微生物生態学的解析が導入された。まずは, 個体の形態情報とこれを遺伝情報と結びつけるためのシングルセル PCR 法の開発 (Shimano et al., 2008) が行われた。次に, 土壌から直接 DNA を抽出し (環境 DNA, eDNA) 群集解析を行うために, 繊毛虫特異的プライマーが開発され

(Puitika et al., 2007) , Shimano et al. (2011) によって, Denaturing Gradient Gel Electrophoresis 法 (DGGE 法, 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法) が土壌繊毛虫に最適化され, 土壌中の繊毛虫群集を簡便に捉える事が出来るようになった. 土壌から未同定の繊毛虫の系統なども合わせて発見されている (Shimano et al., 2011) . 同様に DGGE 法を用いた, 温室における太陽熱土壌消毒の原生生物群集に与える効果 (Murase et al., 2015a) , 耕起・不耕起条件の畑作土壌での原生生物群集についても報告されている (島野, 2006) .

日本の農業面積の多くは水田である. 高橋・洲濱 (1991) 及び高橋 (2000) は, 稲株と水田土壌から出現した繊毛虫の種を調査した. 稲株からは 68 種, 土壌からは 47 種が出現し, 全部で 79 種, そのうち共通種は 36 種, 稲株からだけ出現したものは 32 種, 逆に土壌からだけ出現したものは 11 種であった.

水田における分子生物学的手法による微生物生態学的研究は, Murase et al. (2006) の DGGE 法をもちいた研究から始まった. メタン酸化菌と原生生物の動態 (Murase and Frenzel, 2007, 2010) , 安定同位体を用いた炭素循環と原生生物群集の解析 (Murase et al., 2012) , 水田長期施肥による原生生物群集の変化 (Murase et al., 2015b) , 水田での異なる酸素濃度条件での原生生物群集の変化 (Takenouchi et al., 2016) など, いずれも DGGE 解析や Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP, 末端制限断片長多型解析) , クローンライブラリーをもちいて群集の変化を追っている. 最近では, 水田での原生生物によるイネの植物成長促進根圏細菌の安定的な生存について, 超並列型シークエンサーを用いた解析も行なわれている (Asiloglu et al., 2020) .

農業地以外での群集生態学的研究は, 北海道の無人島である大黒島の原生生物相 (Shimano and Horiguchi, 2008) , 日本中部の低栄養ミズゴケ湿原の有殻アメーバ群集 (Shimano et al., 2017a) , ビル屋上有殻アメーバ群集の比較研究 (Shimano et al., 2017b) が報告されている.

Singer et al. (2019) は, 熱帯のコスタリカ, 亜熱帯の屋久島, そして, 温帯のスイス・イタリアにまたがる湿原のそれぞれのミズゴケ湿原 (*Sphagnum* moss) で, 環境 DNA に基づいて超並列型シークエンサーを用いて 3,035 OTUs (operational taxonomic unit) の原生生物群集の比較を行ったところ, 温帯よりも熱帯と亜熱帯では, OTU の多様性が高くアピコンプレクサ (Apicomplexa) などの動物寄生性の OTU が多いことに起因していると考えられた. また, 分解者は熱帯と亜熱帯で増加し, 光合成能と捕食能を併せ持つ混合栄養生物 (葉緑体をもつ有殻アメーバなど) は温帯で増加した. また, Wanner et al. (2020) は, 栃木県の渡良瀬遊水地で, 足尾銅山から流れ出た重金属汚染の蓄積が, 土壌有殻アメーバ群集の構成に影響を与えていることを報告した.

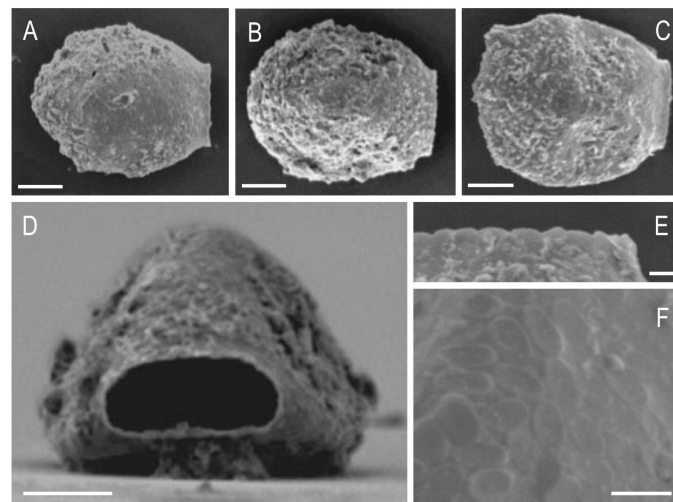


図 2. *Matsakision ogawaraensis* Aoki, Sogame, Wanner, Mazei and Shimano, 2020: SEM 像, A–C 背面; 形態的変異; D 開口部; E 開口部端; F 殻のスケール (鱗片) (Aoki et al., 2020, 許可を得て掲載) . スケールバー: A–D, 10 μ m; E, 1 μ m; F, 5 μ m.

近年, 日本の土壌原生生物に関する分類学的研究として, Bobrov et al. (2012) は, 2 種の有殻アメーバを, Bobrov and Kosakyan (2015) は 1 種の有殻アメーバを日本中部の高山のミズゴケから分離し新種として記載した. Aoki et al. (2020) は, 1 種の有殻アメーバを青森県小川原湖の湖畔の砂から見出し新種として記載した (図 2) . また, Shimano et al. (2014) は皇居の土壌から 54 種の有殻アメーバを見出したが, このうち 1 属 (*Planhoogenraadia*) , 19 種を日本からの新記録として報告した. 日本では, 未だに, 土壌原生生物の分類学的研究, 多様性研究が充分ではないために, 皇居という限られた空間を調査しただけでもこのように多数の日本新記録種が出現する. Bobrov et al. (2019) は, 日本を含むユーラシアから熱帯地域までの有殻アメーバの生物地理学的特徴をまとめた. なお, 生物多様性研究の手引きとして, 石井 (1993, 1999) によって土壌アメーバの特徴と同定法, 高橋 (1993) によって土壌繊毛虫の検出法と分類がまとめられている. また, 画像データベースとして, 土壌原生生物は湿原などに限定されるが, 月井ほか (1995–2018) による原生生物情報サーバ (<http://protist.i.hosei.ac.jp/index-J.html>) を参照されたい.

3. 土壌生態系での微細環境における原生生物の微生物群集のコントロールと物質循環への寄与

日本で, 微生物生態学的観点から, 原生生物が土壌生態系において重要な役割をしていることを最初に示したのは, Hattori (1994) であろう. 土壌団粒と土壌微生物, 及び原生生物の空間分布と被食・捕食の関係に関する研究成果である. 前述したように Vargas and Hattori (1990) は, 乾燥土壌 1 g に, 約 17 万細胞の原生生物

が存在すると推定した。しかし、それらの原生生物の多くは、休眠シストの状態であったと考えられる。一方、活動体の状態にある土壌繊毛虫の数は、Foissner (1987) によれば湿土壌 1 g あたり 50 個体以下、Bamforth (2001) によれば、乾燥ストレス条件下の土壌 1 g の土壌団粒あたり平均 150–250 個体であるという。土壌繊毛虫で代表的な *r* 選択（内的自然増加率を高くする方向）の生存ストラテジーをとる *Colpoda* 属では (Lüftenegger et al., 1985), 原生生物が休眠シストから活動体に、あるいは活動体から休眠シストに変化するのは数時間から 24 時間であり (和唐ら, 2003), 土壌が雨などによって、乾燥と湿潤を繰り返す度に、土壌に生息する原生生物は、休眠シストと活動体に姿を変化させている。

土壌団粒には、物理的構造として大小様々な間隙が存在する。例えば、Vargas and Hattori (1986) は、バクテリアと繊毛虫 (*Colpoda* sp.) を滅菌した土壌団粒に接種する実験を行うことで、土壌に生息するバクテリアと捕食者原生生物は、自分達の体サイズにあわせて、土壌団粒に存在する大小様々な間隙を使って、捕食と被食、そこからの生存をくりかえすという微生物の生態の一面を切り取って見せた。Hattori (1994) は、土壌団粒が湿潤になれば、原生生物が入り込めない土壌団粒の隙間に生存していたバクテリア細胞が増殖を始めその団粒から外に出る。原生生物は湿潤環境により休眠シストから活動体となり、これらのバクテリア細胞の摂食を開始するという「バクテリア群集は原生生物の捕食によってコントロールされている」というスキームを提案した。以上は、橋本 (2000) が日本語で詳しい解説を行っている。

農業上の水圏 (水田) では、原生生物の捕食によってバクテリア群集の種組成の変化が起こることにより (Jürgens et al., 1999), バクテリア自体が原生生物の捕食から逃れる様々なストラテジーを獲得することが報告されている (Matz and Kjelleberg, 2005)。例えば、Murase et al. (2006) は、水田土壌において原生生物の接種と非接種の処理区を比較することでバクテリア群集の質の変化を T-RFLP 法で捉えている。今後、原生生物存在下で、乾燥あるいは湿潤条件の土壌団粒中においてバクテリア群集の質がどの様に変化するのかを捉えるなどの成果が期待される。

さて、森林の土壌での生態系生態学とその流域における物質循環に、原生生物が寄与する例として有殻アメーバのバイオシリカ量の循環への貢献 (青木, 2007 など) がよく知られている。

Aoki (2003) は、独自の計数法を考案し、Aoki et al. (2007) は有殻アメーバの生態系への役割を明確に示し、土壌原生生物学分野にインパクトを与え、いずれも多くの引用がなされている。ケイ酸塩鉱物は地殻に存在する造岩鉱物の 90% にあたり、陸上植物にも相当量のケイ素が含まれている。陸域のケイ酸は河川を通じて海に運ばれ、ケイ藻によって殻に蓄積されることは

よく知られている。陸域においても、ケイ素は植物の健全な育成には不可欠で、植物によって蓄積されるケイ素の量は、年あたり 60–200 Tmol Si で、海洋のケイ藻によって固定されるケイ素の量、年あたり 240 Tmol Si に匹敵し、陸域シリカサイクルにおいて植物が大きな役割を占めていることが知られている。双子葉植物ではケイ素は乾燥重量の 0.5% 以下だが、イネ科植物では 10–15% に達する (Epstein, 1994)。また、ケイ素は生育と収量、酵素活性、病虫害抵抗性、水分欠乏耐性、塩類過剰抵抗性、冷害抵抗性に重要な役割を果たしている (藤井, 2002 など)。Aoki et al. (2007) は、独自に有殻アメーバに含まれるバイオシリカ量を算出し、かつ、これまでに報告されている森林土壌の有殻アメーバ個体密度データから、生態系全体で有殻アメーバによって保持されているバイオシリカ量を算出した。その結果、生きた有殻アメーバの殻として保持されている量は植物によって保持されている量の百から千分の一と小さな値であった。一方、有殻アメーバの年間生産量から有殻アメーバによって土壌に供給されるバイオシリカ量を算出した結果、植物によって生産される量に匹敵するものであった。有殻アメーバは極小の生物でありながら、短いライフタイム、活発な増殖によって毎年大量のケイ酸をバイオシリカへと変換しており、有殻アメーバのバイオシリカが風化を受けやすいこととあわせて、有殻アメーバは一時的なケイ素の保管庫として、シリカサイクルに重要な役割を果たしているものと考えられた (Aoki et al., 2007; 青木, 2007)。

4. 土壌原生生物の農業上の防除資材としての利用

筆者の調べでたどり着ける、日本で最も古い植物防除に関する土壌原生生物の報告は、日野 (1926) による研究であった。本報告では、繊毛虫に植物病原菌 (糸状菌) を食べさせることによって、植物の病気を防ぐ試みである。

有名なものに、糸状菌を食べるアメーバ (食菌性アメーバ) をもちいた土壌病害の防除がある。発端となったのは、スコットランドで小麦の根腐病 (*Cochliobolus sativus*) の分生孢子の細胞壁に穿孔が見つかり、この穿孔のある分生孢子は 1 ヶ月以上おくと死滅したことである (Old, 1967)。この穿孔が大型のアメーバの食痕であり (Old, 1977)、現在のリザリアに所属する *Arachnula impatiens* (Rhizaria: Endomyxa: Vampyrellida) によることが報告された (Old and Darbyshire, 1978)。本間 (1983, 1985) によれば、これ以外にも 10 種程度が食菌性アメーバとして有望であるという。その中には *Thecamoeba* など現在のアメボゾア (Discosea) に所属するものも見られる。Cook and Homma (1979), Homma et al. (1979), 及び Homma and Cook (1985) で、病害防除のための生物資材としての利用を目的に、*A. impatiens* の土壌環境での様々な活性が報告されている。本間ほか (1982) によれば、*A. impa-*

tiens は北海道から沖縄まで、広く偏りなく農業土壌から得られるという。このため、海外での研究を日本に持ち帰りその可能性が検討された(本間, 1983, 1985)。しかしながら、食菌性アメーバを人為的に増殖させることができず、また、日本で問題になっている他の病害防除のためのアメーバ株の探索には結びつかず、本研究は実用化には至っていない。

5. 結び

本稿では、特に日本の土壌原生生物に関する研究を紹介してきた。より包括的に土壌原生生物に関して理解を深めるためには、高橋(2000)、橋本(2000)、Murase(2017)、Geisen(2018)を合わせてご覧頂きたい。

繰り返しになるが、土壌原生生物は、バイオマスが大きいため、土壌生態系では直接微生物群集をコントロールするといわれている(島野, 2018)。しかしながら、依然として、土壌原生生物の研究は遅れていると言わざるを得ない。今後、益々研究が発展することを期待したい。

謝辞

学会賞にご推薦していただきました、元 杏林大学・現 麻布大学・生命・環境科学部 小林 富美恵 先生に深く感謝いたします。また、2名の匿名の査読者と永宗喜三郎先生(国立感染症研究所)には修正の労を頂き深く感謝いたします。末筆ながら、土壌原生生物についてご指導をいただいた高橋 忠夫 先生(元 西九州大学)、たくさんのご指導をいただいた見上 一幸 先生(元 宮城教育大学)、盛下 勇 先生、そして日本原生生物学会にご所属の先生方には大変にお世話になりました。心よりの感謝を申し上げます。

引用文献

Adl, S. M., Bass, D., Lane, C. E., Lukeš, J., Schoch, C. L., Smirnov, A., Agatha, S., Berney, C., Brown, M. W., Burki, F., Cárdenas, P., Čepička, I., Chistyakova, L., Del Campo, J., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Eglit, Y., Guillou, L., Hampl, V., Heiss, A. A., Hoppenrath, M., James, T. Y., Karnkowska, A., Karpov, S., Kim, E., Kolisko, M., Kudryavtsev, A., Lahr, D. J. G., Lara, E., Le Gall, L., Lynn, D. H., Mann, D. G., Massana, R., Mitchell, E. A. D., Morrow, C., Park, J. S., Pawlowski, J. W., Powell, M. J., Richter, D., Rueckert, S., Shadwick, L., Shimano, S., Spiegel, F. W., Torruella, G., Youssef, N., Zlotogursky, V. and Zhang, Q. 2019. Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 66, 4–119. doi:10.1111/jeu.12691.

Aoki, Y. (2003) Accurate enumeration and identification of Testacea (Protozoa, Rhizopoda) in forest soil using scanning electron microscopy. *J. Microbiol. Methods*, 55, 791–795. doi:10.1016/S0167-7012(03)00204-5.

Aoki, Y., Hoshino, M. and Matsubara, T. (2007) Silica and testate amoebae in a soil under pine-oak forest. *Geoderma*, 142, 29–35. doi:10.1016/j.geoderma.2007.07.009.

青木義幸(2007) 森林土壌のシリカサイクルにおける有殻アメーバの役割。(特集: 植物根圏の微生物・微小動物の機能と相互作用)。土と微生物, 61, 61–64. doi:10.18946/jssm.61.1_61.

Aoki, Y., Sogame, Y., Wanner, M., Mazei, Y. and Shimano, S. D. (2020) A new testate amoeba, *Matsakision ogawaraensis* sp. nov. (Silicofilosea: Incertae sedis Euglyphida) from lake shore sand of Northern Japan. *Acta Protozool.*, 59, published online. doi:10.4467/16890027AP.20.008.12676.

Asiloglu, R., Shiroishi, K., Suzuki, K., Turgay, O. C., Murase, J. and Harada, N. (2020) Protist-enhanced survival of a plant growth promoting rhizobacteria, *Azospirillum* sp. B510, and the growth of rice (*Oryza sativa* L.) plants. *Appl. Soil Ecol.*, 154, 103599. doi:10.1016/j.apsoil.2020.103599.

Bamforth, S. S. (2001) Proportions of active ciliate taxa in soils. *Biol. Fertil. Soils*, 33, 197–203.

Berger, H. and Foissner, W. (1989) Morphology and biometry of some soil hypotrichs (Protozoa, Ciliophora) from Europe and Japan. *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Zool.*, 55, 19–46.

Bonnet, L. (1977) Faunistique et Biogéographie des Thécamoebiens. 1. Thécamoebiens des Sols du Mexique. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*, 113, 40–44.

Bonnet, L. (1979a) Origine et Biogéographie des Distomatoxyxis (Rhizopodes Thécamoebiens des Sols, Lobosia, Arcellinida). *C. R. Acad. Sci. Paris, Série D*, 288, 775–778.

Bonnet, L. (1979b) Nouveaux Thécamoebiens du Sol (X). *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*, 115, 106–118.

Bobrov, A., Shimano, S. and Mazei, Y. (2012) Two new species of testate amoebae from the mountain forests soils of Japan and redescription of the genus *Deharvengia* Bonnet, 1979. *Acta Protozool.*, 51, 55–63. doi:10.4467/16890027AP.12.005.0388.

Bobrov, A. and Kosakyan, A. (2015) A new species from mountain forest soils in Japan: *Porosia paracarinata* sp. nov., and taxonomic concept of the genus *Porosia* Jung, 1942. *Acta Protozool.*, 54, 289–294. doi:10.4467/16890027AP.15.024.3538.

Bobrov, A. A., Shimano, S., Qin, Y. and Yang, J. (2019) Testate amoebae of the Gondwana-tropical group and the southwestern border of the Palearctic. *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.*, 46, 450–456 (In Russian). doi: org/10.1134/S1062359019050054.

Bonkowski, M. and Schaefer, M. (1996) Trophische Interaktionen von Regenwürmern und Protozoen. *Veröff.*

- Verh. Ges. Ökologie, 26: 283–286.
- Cook, R. J. and Homma, Y. (1979) Influence of soil water potential on activity of amoebae responsible for perforations of fungal spores [*Cochliobolus sativus*, soils]. *Phytopathol.*, 69, 914.
- Coûteaux, M.-M., (1978) Quelques thécamoebiens du sol du Japon. *Rev. Écol. Biol. Sol.*, 15, 119–128.
- Ehrenberg, C. G. (1838) Die Infusionstheirchen als vollkommene Organismen. Ein Blick in das tiefere organische Leben der Natur. Leopold Voss, Leipzig. doi:10.5962/bhl.title.58475.
- Epstein, E. (1994). The anomaly of silicon in plant biology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 11–17. doi:10.1073/pnas.91.1.11
- Finlay, B. J., Esteban, G. F., Olmo, J. L. and Tyler, P. A. (1999) Global distribution of free-living microbial species. *Ecograph.*, 22, 138–144.
- Foissner, W. (1997) Global soil ciliate (Protozoa, Ciliophora) diversity: a probability-bases approach using large sample collections from Africa and Antarctica. *Biodiv. Conserv.*, 6, 1927–1638.
- Foissner, W. (1999) Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 74, 95–112. doi:10.1016/B978-0-444-50019-9.50009-1.
- Foissner, W. (1987) Soil Protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and tectans, bioindicators, and guide to the literature. *Progr. Protistol.*, 2, 69–212.
- Foissner, W., Agatha, S. and Berger, H. (2002) Soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Namibia (Southwest Africa), with emphasis on two contrasting environments, the Etosha region and the Namib desert, Denisia 5. Part I and II. Landes Museum, Linz.
- 藤井弘志 (2002) 水稻の生育・収量・食味に及ぼすケイ酸の効果. ケイ酸と作物生産. 日本土壌肥科学会 (編), 博友社, 東京, pp. 39–76.
- Geisen, S. and Bonkowski, M. (2018) Methodological advances to study the diversity of soil protists and their functioning in soil food webs. *Appl. Soil Ecol.*, 123, 328–333. doi:10.1016/j.apsoil.2017.05.021.
- Geisen, S., Mitchell, E. A., Adl, S., Bonkowski, M., Dunthorn, M., Ekelund, F., Fernández, L. D., Jousset, A., Krashevskaya, V., Singer, D., Spiegel, F. W., Walochnik, J. and Lara, E. (2018) Soil protists: a fertile frontier in soil biology research. *FEMS Microbiol. Rev.*, 42, 293–323. doi:10.1093/femsre/fuy006.
- Giribet, G. and Edgecombe, G. D. (2020) The invertebrate tree of life. Princeton University Press, New Jersey.
- 橋本知義 (2000) 土の原生動物のはたらき. 新・土の微生物 (7) 生態的に見た土の原生動物・藻類. 日本土壌微生物学会 (編), 博友社, 東京, pp. 55–
- 91.
- Hausmann, K., Hülsmann, N. and Radek, R. (2003). Terrestrial biocoenoses and habitats. *In: Protistology*, third edition. Hausmann, K., Hülsmann, N. and Radek, R. E. (eds) Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, pp. 312–313.
- Hattori, T. (1994) Soil microenvironment. *In: Soil Protozoa*. Darbyshire, J. F. (ed.). Cab International, Wallingford, pp. 43–64.
- 服部勉 (2000) まえがき. 新・土の微生物 (7) 生態的に見た土の原生動物・藻類. 日本土壌微生物学会 (編), 博友社, 東京, pp. i–ii.
- 日野巖 (1926) 土壌中プロトゾアに関する研究. 第三報: 土壌及び水中に於ける植物病原菌の絶滅に関する実験的研究. *農学研究*, 28, 528–539.
- 本間善久 (1983) 食菌性アメーバによる土壌病害の防除の可能性. *農林水産技術研究ジャーナル*, 67, 6–10.
- 本間善久 (1985) 土壌アメーバによる植物病原菌の捕食 (土壌微生物とバイオテクノロジー). *土と微生物*, 27, 29–37. doi:10.18946/jssm.27.0_29.
- Homma, Y. and Cook, R. J. (1985) Influence of matric and osmotic water potentials and soil pH on the activity of giant vampyrellid amoebae. *Phytopathol.*, 75, 243–246.
- 本間善久, 山下洋子, 勝部利弘 (1982) 我国における食菌性アメーバ *Arachnula impatiens* Cienk. の分布とその活性に及ぼす環境要因 (昭和57年度日本植物病理学会大会講演要旨). *日本植物病理學會報*, 48, 370–371.
- Homma, Y., Sitton, J. W., Cook, R. J. and Old, K. M. (1979) Perforation and destruction of pigmented hyphae of *Gaeumannomyces graminis* by vampyrellid amoebae from Pacific Northwest wheat field soils. *Phytopathol.*, 69, 1118–1122.
- 石井圭一 (1993) 土壌アメーバの特徴と同定法. *土と微生物*, 42, 21–29.
- 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.
- Jürgens, K., Pernthaler, J., Schalla, S. and Amann, R. (1999) Morphological and compositional changes in a planktonic bacterial community in response to enhanced protozoan grazing. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1241–1250. doi: 10.1128/AEM.65.3.1241-1250.1999.
- Keeling, P., Burger, G., Durnford, D. G., Lang, B. F., Lee, R. W., Pearlman, R. E., Roger, A. J. and Gray, M. W. (2005) The tree of eukaryotes. *Trends Ecol. Evol.*, 20: 670–676. doi:10.1016/j.tree.2005.09.005.
- 清川昌一, 伊藤孝, 池原実, 尾上哲治 (2014) 地球全史スーパー年表. 日本地質学会 (監), 岩波書店, 東京.
- Lüftener, G., Foissner, W. and Adam, H. (1985) r- and K-selection in soil ciliates: a field and experimental ap-

- proach. *Oecologia*, 66, 574–579.
- Matz, C. and Kjelleberg, S. (2005) Off the hook—how bacteria survive protozoan grazing. *Trends Microbiol.*, 13, 302–307.
- Murase, J. (2017) Quest of soil protists in a new era. *Microb. Environ.*, 32, 99–102. doi:10.1264/jsme2.ME3202rh.
- Murase, J. and Frenzel, P. (2007) A methane-driven microbial food web in a wetland rice soil. *Environ. Microbiol.*, 9, 3025–3034. doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01414.x.
- Murase, J. and Frenzel, P. (2010) A methane-driven microbial food web in a rice field soil. *In: Abstract, 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World*. Gilkes, R. J. and Prakongkep, N. (eds). 1–6 August 2010, Brisbane, Australia. pp. 1–4.
- Murase, J., Noll, M. and Frenzel, P. (2006) Impact of protists on the activity and structure of the bacterial community in a rice field soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72, 5436–5444. doi:10.1128/AEM.00207-06.
- Murase, J., Shibata, M., Lee, C. G., Watanabe, T., Asakawa, S. and Kimura, M. (2012) Incorporation of plant residue-derived carbon into the microeukaryotic community in a rice field soil revealed by DNA stable-isotope probing. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 79, 371–379.
- Murase, J., Hida, A., Ogawa, K., Nonoyama, T., Yoshikawa, N. and Imai, K. (2015b) Impact of long-term fertilizer treatment on the microeukaryotic community structure of a rice field soil. *Soil Biol. Biochem.*, 80, 237–243. doi:10.1016/j.soilbio.2014.10.015.
- Murase, J., Shinohara, Y., Yokoe, K., Matsuda, R., Asakawa, S. and Hashimoto, T. (2015a) Impact of soil solarization on the ciliate community structure of a greenhouse soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 61, 927–933. doi:10.1080/00380768.2015.1079799.
- Old, K. M. (1967) Effects of natural soil on survival of *Cochliobolus sativus*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 50, 615–624.
- Old, K. M. (1977) Giant soil amoebae cause perforation of conidia of *Cochliobolus sativus*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 68, 277–281. doi:10.1016/S0007-1536(77)80018-1.
- Old, K. M. and Darbyshire, J. F. (1978) Soil fungi as food for giant amoebae. *Soil Biol. Biochem.*, 10, 93–100. doi:10.1016/0038-0717(78)90077-9.
- Puitika, T., Kasahara, Y., Miyoshi, N., Sato, Y. and Shimano, S. (2007) A taxon-specific oligonucleotide primer set for PCR-based detection of soil ciliate. *Microbes Environ.*, 22, 78–81. doi.org/10.1264/jsme2.22.78.
- Raven, J. A. and Edwards, D. (2001) Roots: evolutionary origins and biogeochemical significance. *J. Exp. Bot.*, 52 (suppl.1), 381–401. doi:10.1093/jexbot/52.suppl_1.381.
- Sandon, H. (1927) The composition and distribution of the protozoan fauna of the soil. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- Sebé-Pedrós, A., Degnan, B. M. and Ruiz-Trillo, I. (2017) The origin of Metazoa: a unicellular perspective. *Nature Reviews Genetics* 18, 498–512.
- Shibuya, M. (1927) Notes on the protozoa in the soil. *Proc. Imp. Acad., Jpn.*, 3, 384–385.
- 澁谷正健 (1929) 本邦産土壤纖毛虫. 農事試験場彙報, 1, 199–214+pl. XIX-XX.
- 島野智之 (2002) 総説・根圏の原生動物. 根の研究 (Root Research), 11, 107–117.
- 島野智之 (2006) 土壤原生生物の利活用のための基盤的研究. 東北の農業と土壤肥料. 日本土壤肥料学会東北支部 (編), 河北印刷株式会社, 岩手, pp. 247–249.
- 島野智之 (2007) 根圏における原生生物の役割—土壤原生生物とバクテリアおよび植物根との関連について—土と微生物 (Soil Microorganisms), 61, 41–48.
- 島野智之 (2009) 畑土壤における原生生物および纖毛虫群集の新たな解析法—顕微鏡的手法と分子生物学的手法—土壤の原生生物・線虫群集—その土壤生態系での役割—. 日本土壤肥料学会 (編), 博友社, 東京, pp. 69–89.
- 島野智之 (2014) 生物指標の手法と原生生物への応用. 原生生物フロンティア: その生物学と工学. 洲崎敏伸 (編), 化学同人, 京都, pp. 103–114.
- 島野智之 (2018) 原生生物. 土壤生態学, 実践土壤学シリーズ. 金子信博 (編), 朝倉書店, 東京, pp. 14–30.
- Shimano, S. and Horiguchi, T. (2008) Soil protists and soil animals on Daikokujima. *In: Origin and evolution of natural diversity, Proceedings of international symposium “The origin and evolution of natural diversity”* 1–5 October 2007. Okada, H., Mawatari, S.F., Suzuki, N. and Gautam, P.(eds), Hokkaido University, Sapporo, pp. 151–152.
- Shimano, S., Bobrov, A. and Mazei, Y. (2014) Testate amoebae of the Imperial Palace, Tokyo. *Mem. Natl. Mus. Nat. Sci.*, 50, 21–28.
- Shimano, S., Onodera, Y. and Wanner, M. (2017b) Testate amoebae collected from moss on urban buildings with different age, height and distance to a possible source habitat – are there obvious colonization patterns? *Soil Org.*, 89, 151–155.
- Shimano, S., Sambe, M. and Kasahara, Y. (2011) Application of a nested PCR-DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis) method for the analysis ciliate communities in soils. *Microbes Environ.*, 27, 136–141. doi:10.1264/jsme2.ME11287.
- Shimano, S., Sanbe, M. and Kasahara, Y. (2008) Linkage between light microscopic observations and molecular analysis by single-cell PCR for ciliates. *Microbes Environ.*, 23, 356–359. doi:10.1264/jsme2.ME08532.
- Shimano, S., Bobrov, A., Wanner, M., Lamentowicz, M.,

- Mazei, Y. and Ohtsuka, T. (2017a) Testate amoeba diversity of a poor fen on mineral soil in the hilly area of Central Honshu, Japan. *Acta Protozool.*, 56, 211–216. doi:10.4467/16890027AP.17.018.7499.
- Singer, D., Metz, S., Unrein, F., Shimano, S., Mazei, Y., Mitchell, E. A. D. and Lara, E. (2019) Contrasted micro-eukaryotic diversity associated with *Sphagnum* mosses in tropical, subtropical and temperate climatic zones. *Microb. Ecol.*, 78, 714–724. doi:10.1007/s00248-019-01325-7.
- 鈴木實 (1964a) 水量の少ない環境に生息する水生微小動物群集の生態学的解析 I: 地上性コケ水にみられる水性動物相とその変動. *動物学雑誌*, 73, 165–174.
- 鈴木實 (1964b) 水量の少ない環境に生息する水生微小動物群集の生態学的解析II: 地上性コケ水動物群集の動物相構成に関する理論. *動物学雑誌*, 73, 245–250.
- 鈴木實 (1981a) 分布. 原生動物図鑑. 猪木正三 (監), 講談社サイエンティフィク, 東京, pp. 75–91.
- 鈴木實 (1981b) その他の人口環境. 原生動物図鑑. 猪木正三 (監), 講談社サイエンティフィク, 東京, pp. 126–128.
- Suzuki, S. (1954) Taxonomic studies on *Blepharisma undulans* Stein with special reference to the macronuclear variation. *J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B, Div.*, 1, 15, 205–220.
- Takahashi, T. (1973) Mating types and two conjugation types of *Pseudourostyla levis* sp. n. (Ciliata). *J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B, Div.* 1, 24, 145–163.
- 高橋忠夫 (1993) 土壌繊毛虫の検出法と分類. *土と微生物*, 42, 31–41.
- 高橋忠夫 (2000) 土の原生動物. 新・土の微生物 (7) 生態的に見た土の原生動物・藻類. 日本土壌微生物学会 (編), 博友社, 東京, pp. 5–54.
- 高橋忠夫, 洲濱幹雄 (1991) 水田の繊毛虫相について. *Bull. Jpn. Soc. Microb. Ecol.* (日本微生物生態学会誌), 6, 103–115.
- Takenouchi, Y., Iwasaki, K. and Murase, J. (2016) Response of the protistan community of a rice field soil to different oxygen tensions. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 92, fiw104. doi:10.1093/femsec/fiw104.
- Vargas, R. and Hattori, T. (1986) Protozoan predation of bacterial cells in soil aggregates. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 38, 233–242. doi:10.1111/j.1574-6968.1986.tb01733.x.
- Vargas, R. and Hattori, T. (1990) The distribution of protozoa among soil aggregates. *FEMS Microbiol. Lett.*, 74: 73–77. doi:10.1111/j.1574-6968.1990.tb04053.x.
- Vargas, R. and Hattori, T. (1991) The distribution of protozoa within soil aggregates. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 37, 515–518. doi:10.2323/jgam.37.515.
- Wanner, M., Birkhofer, K., Fischer, T., Shimizu, M., Shimano, S. and Puppe D. (2020) Soil testate amoebae and diatoms as bioindicators of an old heavy metal contaminated floodplain in Japan. *Microbial Ecol.*, 79, 123–133. doi:10.1007/s00248-019-01383-x.
- 和唐智子, 山岡雅仁, 長尾美智子, 荻沼一男, 松岡達臣 (2003) 繊毛虫コルポータ (*Colpoda* sp.) のシスト形成・脱シスト誘導因子. *原生動物学雑誌*, 36, 105–111. doi:10.18980/jjprotozool.36.2_105.
- 矢崎裕規, 島野智之 (2020) 真核生物の高次分類体系の改訂—Adl et al. (2019) について—, *タクサ*, 48, 71–83.