

サクラミミズ (*ALLOLOBOPHORA JAPONICA*) の 酸性土壌に対する感受性

大野正彦

要 旨

ミミズは一般的に土壌動物の中で優占し、陸上生態系において重要な機能を果たしている。しかし、酸性環境では個体数が減少する。ヨーロッパにおいて低pHに対する感受性が調査され、感受性により分布が説明できると言われる。このような研究は我が国では行われてこなかった。我が国の普通種サクラミミズ (*Allolobophora japonica*) の酸性土壌に対する感受性を調べた。この種はpH3.9~4.1のClark-Lubs緩衝液に漬けられると口器prostomiumを急激に引き込めた。また、この種は硫酸処理土壌のpH3.6未満になると、潜らなくなり、pH4.0未満では土壌表面や土壌中で死亡した。土壌の種類や酸処理方法による違いはみられなかった。この種の酸感受性はヨーロッパの種とほぼ等しかった。水溶性アルミニウムはミミズ (ミミズの土壌潜入率、生存率) に対し明確な影響を及ぼさなかった。土壌が、この種および陸上生態系保全のためpH4以上になるよう維持することが重要である。

キーワード：ミミズ、サクラミミズ (*Allolobophora japonica*)、酸性土、感受性、アルミニウム

1 はじめに

ミミズは多くの場合、土壌動物の中で優占し、有機物を分解したり、土壌を攪拌するなど陸上生態系において重要な機能を果たしている。彼らは一般的に土壌pHが4.0~4.5で個体数を減らし、3.5以下になると見られなくなる^{1,2)}。ヨーロッパにおいてミミズの低pHに対する感受性について調べられ、ミミズの分布が感受性によって説明できるといわれている³⁻⁵⁾。酸性降下物に関しては、ミミズは、人工酸性雨で処理した区域^{6,7)}や多量に酸性物質が降下してpH4.5になった場所⁸⁾、および酸処理しpH3.9以下にした土壌サンプル等で個体数を減少させた⁹⁾。このような研究は我が国では行われてこなかった。酸性降下物の陸上生態系に及ぼす影響を知るため、ミミズの酸性溶液、酸性土壌に対する感受性を調べることは重要と考えた。

我が国に生息するサクラミミズ (*Allolobophora japonica* Michaelsen) の酸性水溶液と酸性土壌に対する感受性を調べ、報告した¹⁰⁾。しかし、そこでは土壌から溶出するアルミニウムの影響や酸添加時の土壌pHの変化等について触れなかった。前報の感受性の結果

と併せて、以下に述べる

2 実験方法

(1) ミミズ

サクラミミズはツリミミズ科 (Lumbricidae) の一種で、我が国において山野から農地まで広く分布する^{11,12)}。ヨーロッパのミミズはほとんどツリミミズ科に属し、サクラミミズは感受性を比較する上で好適な種である。

典型的な都市公園である都内代々木公園の二次林でミミズを採集した。林の土とともに実験室 (20~22°C) に持ち帰り、実験前3日間、馴化させた。環帯のある成熟個体を実験に用いた。個体の平均の湿重は0.2~0.4 gであった。

(2) 浸漬実験

2つの酸希釈溶液 (硫酸、硝酸) とClark-Lubs緩衝液 (フタル酸水素カリウム水溶液を塩酸または水酸化ナトリウムで調整) を実験に用いた。次に述べる2つの方法で感受性を知らうと試みた。

チューブ法：ミミズを塩化ビニルチューブに入れた (図1a)。ミミズはチューブに沿って自発的に這い下

り、先端の節の口前葉 (prostomium) を酸性液に浸した。ミミズは高いpHでは液に浸っているが、低pHでは、すぐに口前葉を引っ込めた。浸漬時間を記録した。5から7個体を各pH段階で20~22°Cで実験した。実験で酸性液に曝露したものは再び試験に供しなかった。

②吊り下げ法：ミミズの体の中間部をピンセットで保持し、口前葉を酸性液に浸された (図1b)。浸漬時間を記録した。その他の処置はチューブ法と同様であった。

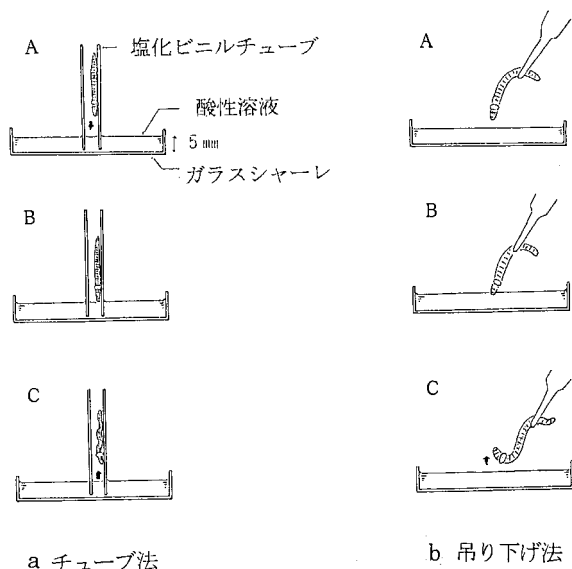


図1 酸性溶液に対する忌避実験の方法
浸漬時間：BとCの間

(3) 土壌曝露実験

3種類の土壌、すなわち、公園土壌 (東京都渋谷区代々木公園、黒ぼく土)、黒ぼく土 (東京農工大学波丘地実験施設、東京都八王子市)、褐色森林土 (東京大学愛知演習林、愛知県瀬戸市) を実験に用いた。この黒ぼく土と褐色森林土は硫酸処理され、スギ稚樹の生育実験¹³⁾に用いられたものである。これらのpHは、それぞれ7.28、4.95、4.04であった。土は2mmの篩でふるい、次の2種の硫酸濃度で処理された。

1 規定硫酸処理：1 規定 (1N) 硫酸溶液をガラスビーカーに入れた土壌湿重300gに加えた。溶液の量を変えることで、様々なpH土壌を作成した。

0.1規定硫酸処理：0.1規定 (0.1N) 硫酸溶液300mLをろ過器内の土壌湿重300gに注いだ。溶液を1日間そこに溜らせた。排水した後、同量の新しい溶液を再び加えた。この処置を毎日繰り返した。処理日数により土壌pHを変化させた。

酸処理した土壌を室内で乾かせ、水分が約30%になるよう調整した。ミミズ5個体を、ポリプロピレン容器 (直径6cm、高さ7cm) 内に入れた土壌 (40g、深さ約3cm) の表面に置いた。行動を観察した後、容器の口を綿製のガーゼで覆った。各pH段階で5つの容器 (合計25個体) を作成した。容器を、20°C、相対湿度90%、暗条件下の小室に置いた。この曝露期間中、1日おきに少量の蒸留水を土に注いだ。

土壌潜入率 (完全に潜っている個体の割合) を曝露1日後に算定した。ミミズにピンセット等で物理的な刺激を与え、動くものを生体とみなし、生存率を曝露1日後と2週間後に算定した。

(4) 土壌から溶出するアルミニウム

三輪ら¹³⁾の方法に準拠して上記の硫酸処理した各土壌 (乾重で10g相当) をビーカーに入れ、脱イオン水50mLを加えて1時間攪拌し、一部をメンブレンフィルター (セルロースアセテート0.45μm) でろ過した。ろ液中のアルミニウムを原子吸光分析計 (バリアンSpectraAA-800) で測定し、土壌乾重あたりの水溶性アルミニウム量を算定した。

3 結果と考察

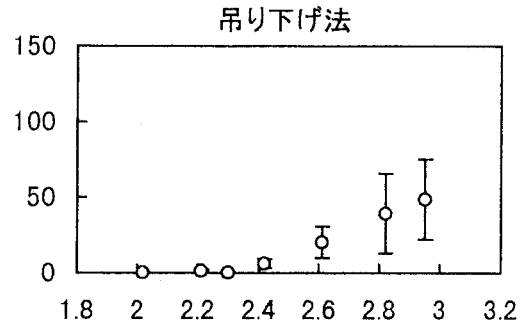
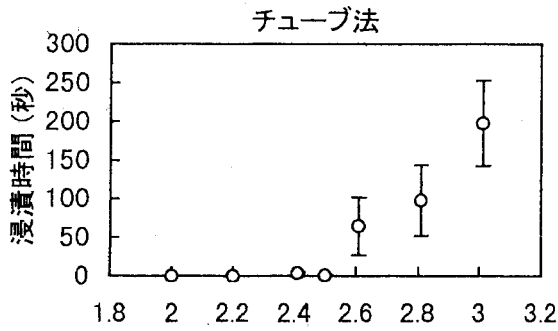
(1) 浸漬実験

サクラミミズは閾値pHを持ち、その値以下では激しい忌避行動を示した。ミミズは硫酸溶液ではチューブ法、吊り下げ法でそれぞれpH2.5、pH2.3で、その口前葉をすぐに引っ込めた (図2)。硝酸溶液でも同様の忌避行動を示した。しかし、緩衝液における行動は酸溶液と異なり、pH3.9~4.1において口前葉をすぐに引っ込めた。ヨーロッパのツチミミズ (*Lumbricus terrestris*) でも同じ結果が報告されており、硫酸ではpH2.6 (チューブ法) に閾値を持ち、緩衝液ではpH4.0 (吊り下げ法) が閾値であった³⁻⁵⁾。この液による違いの理由は明らかでない。これらの溶液の緩衝能力の違いに起因しているように思える。

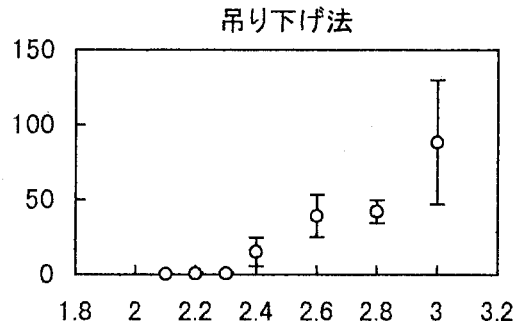
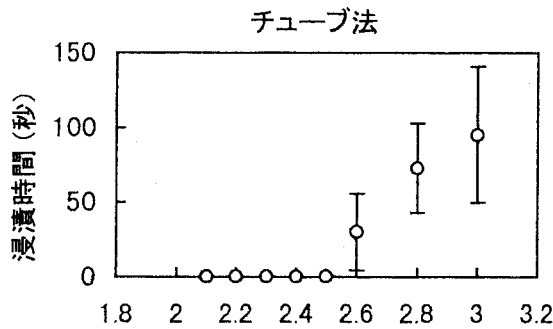
各実験においてチューブ法による閾値が吊り下げ法に比べpHが0.2ほど高かった。チューブ法のミミズは、吊り下げ法に比べて容易に自発的に動けるので、より中性側で忌避するのではないかと考えられる。ミミズの状態により閾値が変化することがわかった。

なお、試験溶液3種のpHは、ミミズ接触によってもほとんど変化しなかった。しかし、蒸留水 (約pH5.8)

A. 硫酸溶液



B. 硝酸溶液



C. Clark-Lubs 緩衝液

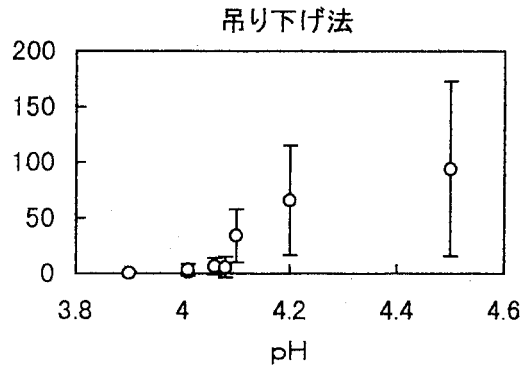
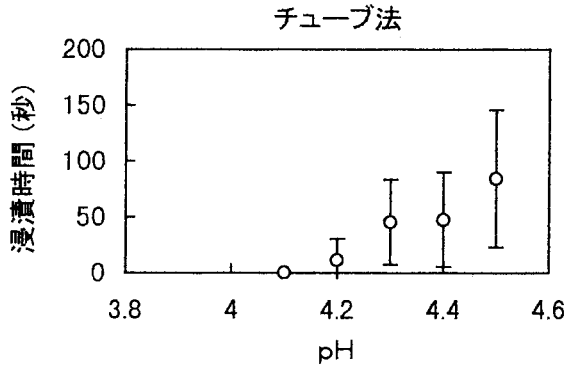


図2 サクラミミズの酸性溶液に対する忌避実験 浸漬時間はBとC(図1)の間の時間 ○: 平均値、縦棒: 標準偏差

で同様の実験を行うと、蒸留水はミミズ接触後、チューブ法、吊り下げ法でそれぞれpH6.2~6.4(平均浸漬時間187秒)、pH6.1~6.4(同88秒)になった。土を除いたミミズ20個体に湿重と同量の蒸留水を加え、すばやく攪拌した後のpHは6.2であった。ミミズの体表面は弱酸性であろう。

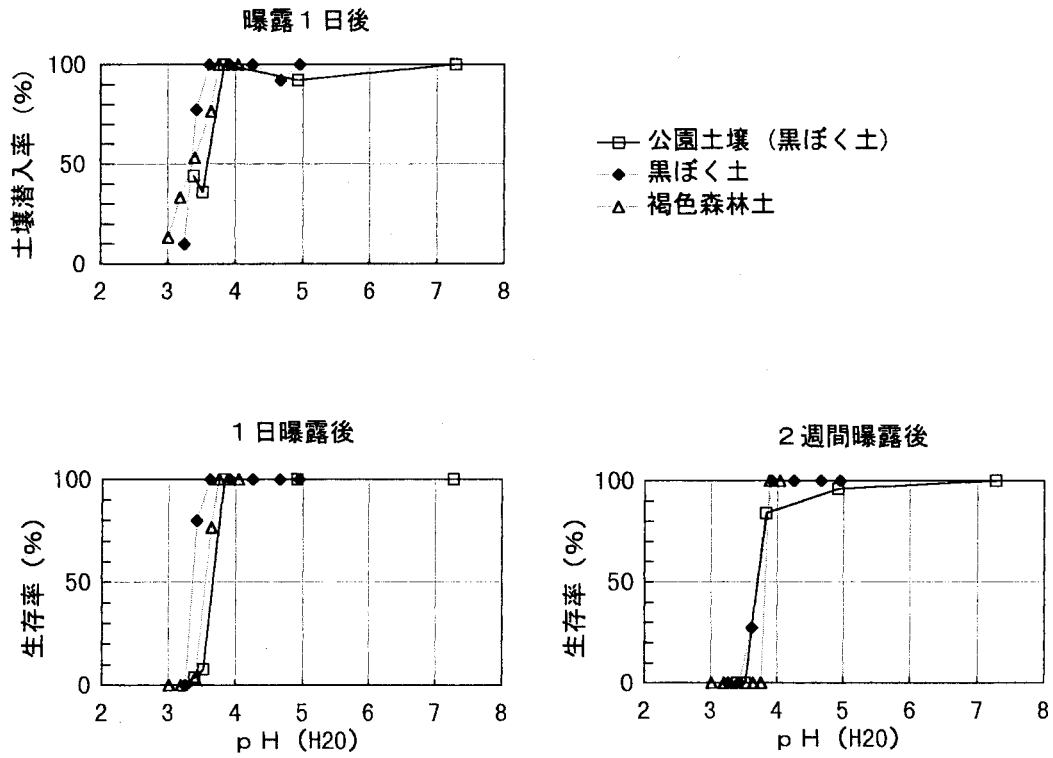
(2) 土壤曝露実験

ほとんどの個体は土のpHが3.6未満になると土に潜らなくなり、pH4.0未満では曝露2週間後に死滅した(図3)。3つの酸性化土壌の間に、生存率の明らかな違い

はみられなかった。2つの処理方法(1Nと0.1N)の間にも違いはみられなかった。サクラミミズはpH4.0未満の土壌に耐えられないことがわかった。この値(pH4.0)は、浸漬実験と同様に土壤曝露実験においてもミミズの閾値であった。なお、実験期間中、土壌pHはほとんど変わらなかった。

この値はヨーロッパに広く分布するミミズの閾値に近似しており、アカミミズ(*L. rubellus*)はpH3.8、ツチミミズ(*L. terrestris*)ではpH4.0~4.3で、それらの野外分布域の制限値も、それぞれpH3.7とpH4.1で

A. 1N 硫酸処理土壤



B. 0.1N 硫酸処理土壤

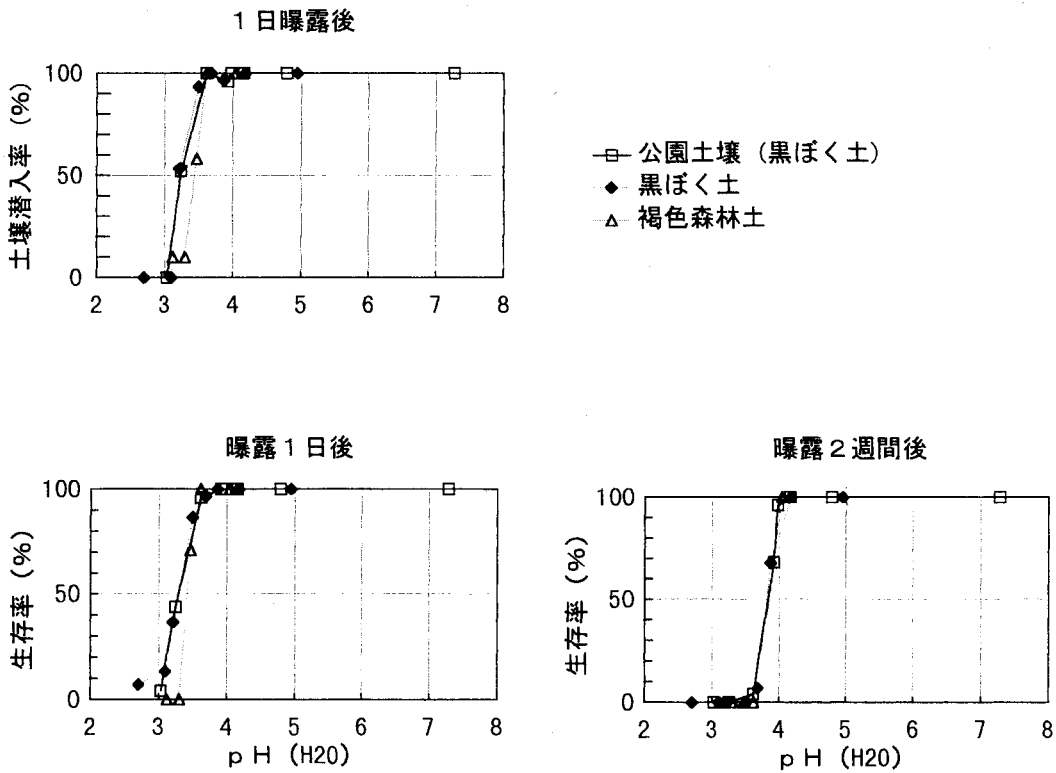


図3 土壤pHとサクラミズの土壤潜入率、生存率との関係
 土壤潜入率は体が完全に潜っている個体の割合。生存率は物理的的刺激を与えた時に動く個体の割合。

あった⁵⁾。緩衝液におけるpHの閾値または土壌曝露のpH閾値は、野外分布を制限しているpH値を反映している^{3-5,14)}。野外において土壌pHと関連したサクラミズ分布は詳細にはわかっていない。しかし、実験から推定した閾値から判断して、この種はpH 4未満の土壌にはみられないと考えられる。

(3) 溶出アルミニウム

土壌pHが4より低下すると、水溶性アルミニウムが著しく増加した(図4)。pH 4以下で溶出するアルミニウムの大部分はAl³⁺と考えられており^{15,16)}、増加したア

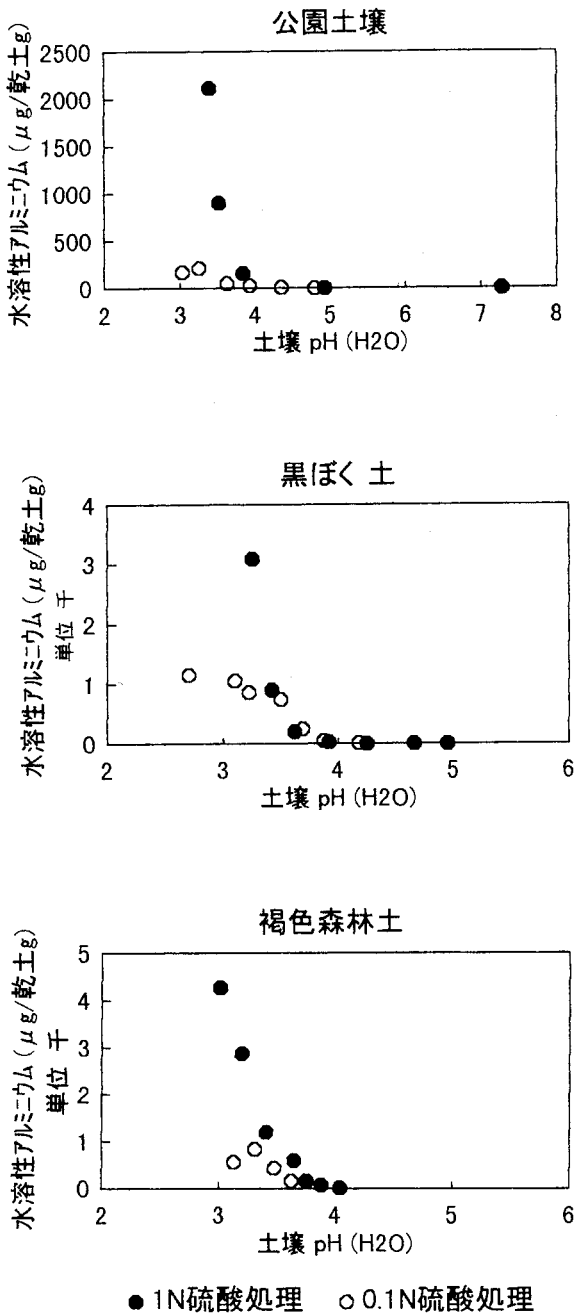


図4 硫酸処理酸性土壌のpHと溶出するアルミニウムとの関係

ルミニウムはAl³⁺であろう。半開放系の0.1N処理は、閉鎖系の1N処理に比べ溶出するアルミニウムが少なかった。0.1N処理過程でアルミニウムが外部に流出したためであろう。

ミミズの土壌潜入率、生存率と水溶性アルミニウム量の関係を図5に示した。土壌pHとの関係(図3)に比べ、明瞭な関係は認められなかった。環境が酸性化すると、植物や魚類は溶出するアルミニウム(おもにAl³⁺)に多大な影響を受けるといわれる^{16,17)}。土壌はアルミニウムに富んでおり、そこに生息しているミミズは、植物や魚類に比べあまり影響を受けないことが推測される。ただし、アルミニウムはpHにより様々な形態をとるため¹⁵⁾、ミミズに及ぼす影響については今後の検討が必要であろう。

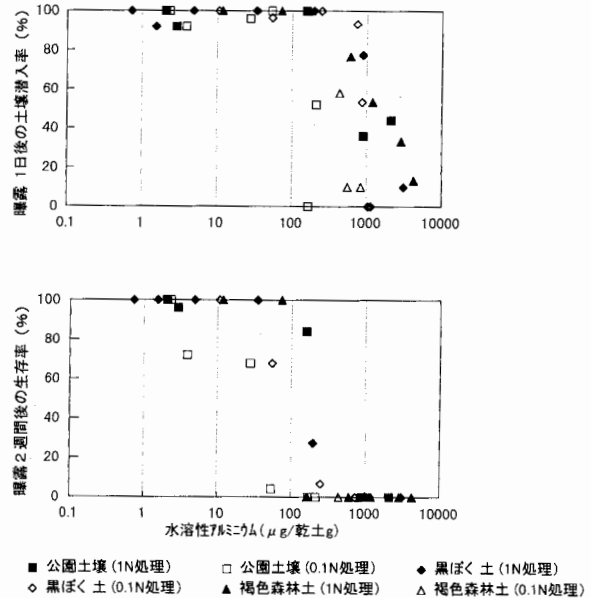


図5 溶出アルミニウムとサクラミズの土壌潜入率、生存率の関係

(4) 土壌pHの変化

酸処理による3種の土壌のpHの変化を図6に示した。土壌pHを4前後(閾値付近)に低下させるのに必要な硫酸添加量は、3種の土壌で異なった。1N硫酸処理においてpH 4以下にする添加量は、公園土壌が最も多く(0.5meq/乾土g)、黒ぼく土(0.2meq/乾土g)、褐色森林土(0.03meq/乾土g)と続いた。0.1N処理においても公園土壌、黒ぼく土、褐色森林土でそれぞれ、4日、3日、1日の処理日数を要し(添加量はそれぞれ、0.56、0.53、0.14meq/乾土g)、同様の順であった。今回調査した褐色森林土(母材:花崗岩)は、もともと

1 N 硫酸処理

0.1 N 硫酸処理

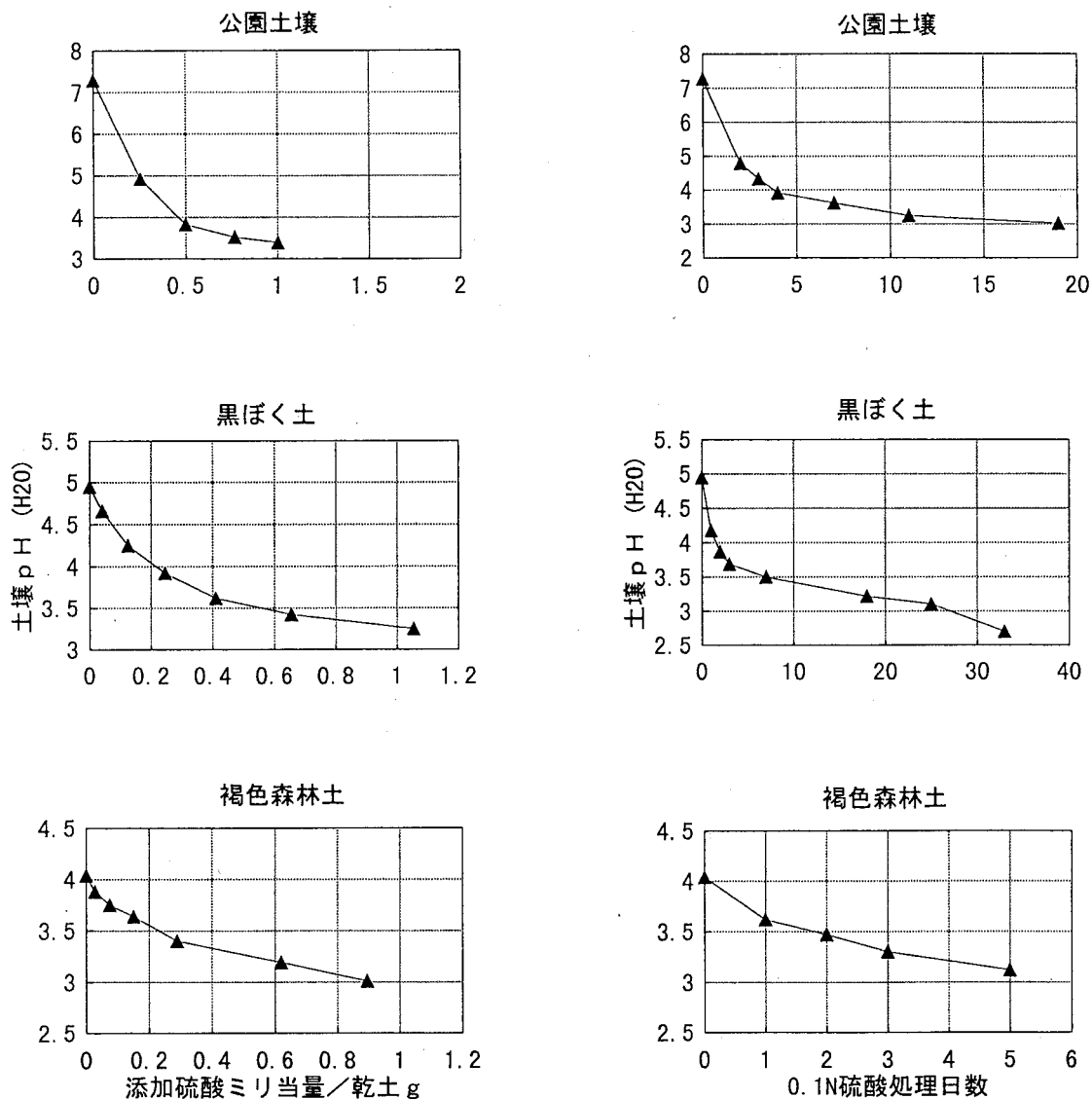


図6 硫酸処理による土壌pHの変化

土壌pHが低く、交換性塩基含量が低いいためpHの低下をきたしやすいといわれる。サクラミミズにとって今回のような褐色森林土は生息に向いていないと推測できる。

4 おわりに

サクラミミズはClark-Lubs緩衝液においてpH3.9~4.1で激しい忌避行動を示した。また、ミミズは、硫酸処理の土壌においてpHが4.0を切ると土壌の表面や中で死滅した。生存率は、土壌の種類や硫酸処理の方法の間で違いはみられなかった。pH低下に伴って溶出するアルミニウムよりも、土壌pHがミミズに大きく影響し

ていると推測された。これらのことから、サクラミミズは土壌pHが4.0未満では生息できないと考えられた。この値は、ヨーロッパのツリミミズ類の閾値と大きな違いはなかった。ミミズ類の生息と陸上生態系を保全するため、土壌pHを4以上に維持することが重要であると考えられる。

ただし、それを確認するためには、他のミミズの酸性土壌に対する感受性も調べる必要がある。しかし、我が国に多産するフトミミズ類 (Megascolecidae) は未記載種が多く¹⁸⁾、個々の種の生態に関する知見¹⁹⁾が乏しく、pHと関連した分布調査³⁻⁵⁾も行われていない。

同定可能な種を用いて、前記緩衝液に対する忌避行動を調べるのが、ミミズ類の感受性を知る上で最も迅速な方法と考える。また、実際の状況に近いように低濃度の酸で土壤に処理し曝露実験を行うことも、結果を得るまでに時間がかかるが、感受性を知る上で重要と考える。

謝辞

サクラミミズの同定をしていただき、貴重なご助言を賜った農林水産省東北農業試験場中村好男博士に感謝いたします。また、土壤を分与していただいた東京農工大学波丘地実験施設及び東京大学愛知演習林の皆様、および、アルミニウムの分析にご協力いただいた当所分析研究部渡辺正子主任研究員に感謝いたします。

参考文献

- 1) Lee, K. E.: Earthworms, their Ecology and Relationships with Soils and Land Use, Academic Press (1985)
- 2) Curry, J. P.: Earthworm Ecology, A. Edwards ed., St. Lucie Press, pp. 37-64 (1998)
- 3) Satchell, J. E.: Soil Zoology, in D. K. M. Kevan ed., Butterworths Scientific Publisher, London, pp. 180-201 (1955)
- 4) Satchell, J. E.: Soil Biology, A. Burges and F. Raw ed., Academic Press, pp. 259-322 (1967)
- 5) Laverack, M. S.: Tactile and chemical perception in earthworms - II Responses to acid pH solutions, Comp. Biochem. Physiol., 2, pp. 22-34 (1961)
- 6) Esher, R. J., Marx, D. H., Baker, R. L., Brown, L. R. and Coleman, D. C.: Simulated acid rain effects on fine roots, ectomycorrhizae, microorganisms, and invertebrates in pine forests of the Southern United States, Water, Air and Soil Pollution, 61, pp. 269-278 (1992)
- 7) Ammer, S. and Makeschin, F.: Auswirkungen experimenteller saurer Beregnung und Kalkung auf die Regenwurmfauna (Lumbricidae, Oligochaeta) und die Humusform in einem Fichtenaltbestand (Hogliwaldexperiment), Forstw. Cbl., 113, pp. 70-85 (1994)
- 8) Kuperman, R. G.: Relationships between soil properties and community structure of soil macroinvertebrates in oak-hickory forests along an acidic deposition gradient, Appl. Soil Ecol., 4, pp. 125-137 (1996)
- 9) Hågvar, S. and Abrahamsen, G.: Colonisation by Enchytraeidae, Collembola and Acari in sterile soil samples with adjusted pH levels, Oikos, 34, pp. 245-258 (1980)
- 10) Ohno, M.: Sensitivity of a Japanese earthworm (*Allobophra japonica*) to soil acidity, Water, Air and Soil Pollution, 130, pp. 1019-1024 (2001)
- 11) 山口英二: 貧毛類、新日本動物図鑑(上), 岡田要ら編, 北隆館, pp. 547 (1965)
- 12) 中村好男: ミミズと土と有機農業, 創森社, pp. 123 (1998)
- 13) 三輪誠、伊豆田猛、戸塚績: 母材が異なる3種類の土壤の酸性化がスギ苗の生長に及ぼす影響, 大気汚染学会誌, 29, pp. 254-263 (1994)
- 14) Madge, D. M.: Field and laboratory studies on the activities of two species of tropical earthworms, Pedobiologia, 9, 188-214 (1969)
- 15) 高津章子、角田欣一: 酸性雨研究と環境試料分析, 佐竹研一編, pp. 92-114, 愛智出版 (2000)
- 16) 三輪誠、伊豆田猛、戸塚績: 酸性環境の生態学, 佐竹研一編, pp. 135-154, 愛智出版. (1999)
- 17) 生田和正ら: 酸性環境の生態学, 佐竹研一編, 愛智出版, pp. 15-32 (1999)
- 18) 中村好男: 日本産土壤動物分類のための図解検索, 青木淳一編, 東海大学出版会, pp. 103-110 (1999)
- 19) Bal, L: Zoological ripening of soils, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, pp. 365 (1982)