

Om jordbundsprotozoernes forekomst og biologiske forhold

Af Jørgen Lose

Afhandlingen er udarbejdet af forfatteren, som led i et specialstudium ved Københavns Universitet. Arbejdet er udført på Bakteriologisk afdeling, Statens Planteavlslaboratorium, Lyngby.

Jordbundens encellede dyr har ikke været genstand for så stor interesse som bakterierne i jorden. På dansk foreligger der ingen oversigt over litteraturen om jordbundsprotozoer siden *H. L. Jensens* afhandling (1925).

Protozoer karakteriseres ofte som primitive encellede organismer varierende i størrelse fra få μ til flere millimeter. Det må dog indvendes, at man ved at kalde protozoerne primitive kun kan støtte sig den kendsgerning, at de er encellede. De er i stand til at foretage bevægelser, har respiration, stofskifte, forplantning og de kan reagere på ydre påvirkninger; samtidig er deres livscyklus ofte yderst kompliceret.

Det er naturligt at henføre protozoerne til faunaen på grund af deres nævnte karakterer; til tider har man dog været nødsaget til at foretage en skønmæssig placering. Således har *phytoflagellaterne* undertiden fotosyntese, og mange alger er i stand til at foretage bevægelser for bare at nævne et par af de problemer, der knytter sig til den systematiske placering.

1. Oversigt over protozosystemet

(Efter *Hall* (1953) og *Sandon* (1927)). Parasitiske og udprægede vandformer er udeladt.

I. MASTIGOPHORA (flagellater):

Bevægelsesorganel: En til flere flageller

Forplantning: Længdedeling

Livscyklus: Sempel

Jordformer: 5-20 μ lange

1. *Phytomastigophora*: Indeholder chlorofyll.

Eks.: *Chlamydomonas*, *Euglena*, *Peranema*

2. *Zoomastigophora*: Indeholder ikke chlorofyll

Eks. *Allantion*, *Bodo*, *Cercobodo*, *Cercomonas*, *Entosiphon*, *Heteromita*, *Monas*, *Oikomonas*, *Phalansterium*, *Sainouron*, *Scytomonas*, *Spiromonas*, *Spongomonas*, *Tetramitus*.

II. SARCODINA:

Bevægelsesorganel: Pseudopodier

1. *Actinopoda*: Axopodier

Eks: *Heliozoa*, *Radiolaria*

2. *Rhizopoda*: Uden axopodier. Mange af formerne har en skal som består af mineralske jordpartikler. (Testacea)

Eks: *Amoeba*, *Amphiterma*, *Biomyxa*, *Centropyxis*, *Chlamydothryx*, *Diffugia*, *Euglypha*, *Hartmanella*, *Lecythium*, *Naegleria*, *Nebela*, *Nuclesia*, *Pelomyxa*, *Trinema*.

III. SPOROZOA: Udprægede parasitiske protozoer

IV. CILIOPHORA: Infusionsdyr

Bevægelsesorganel: Cilier

Jordformer: 18-89 μ

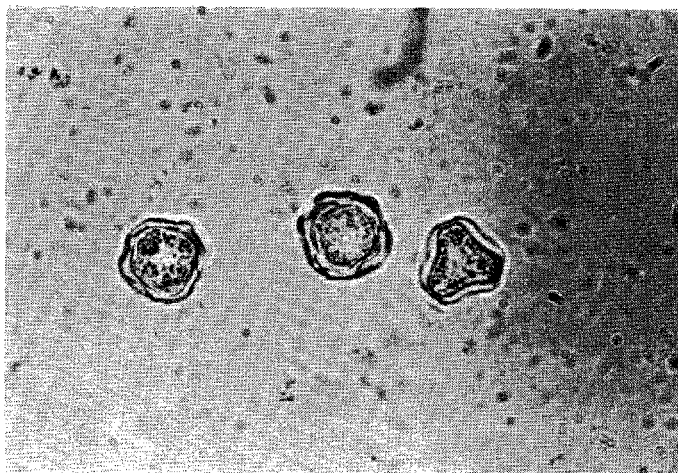
1. *Ciliata*: De voksne dyr har cilier som fuldstændigt omgiver cellekroppen.

Eks: *Balantiophorus*, *Colpodium*, *Colpoda*, *Chilodon*, *Enchelys*, *Gastrostyla*, *Gonostomum*, *Halteria*, *Oxytricha*, *Pleurotricha*, *Uroleptus*, *Vorticella*.

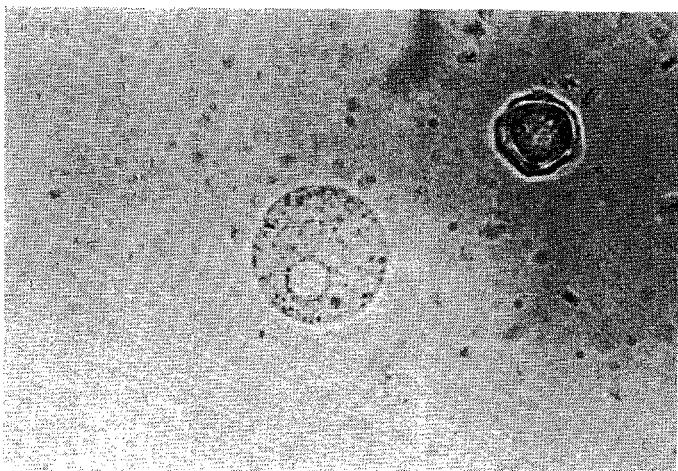
2. *Suctoria*: Udprægede parasitiske vandformer.

2. Protozoernes udbredelse

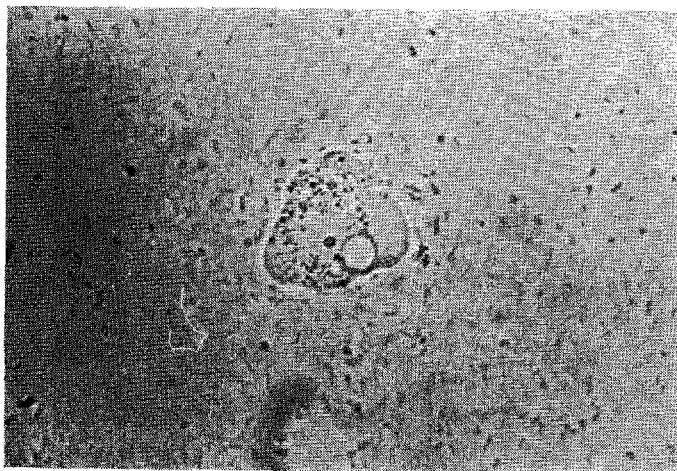
Indtil 1909, da *Russell* og *Hutchinton* fremsatte deres berømte »theory of partiel sterilisation« (som gik ud på, at protozoerne i jorden ved at fortære bakterierne begrænsede disses antal, hvorved den mikrobiologiske stofomsætning hævmedes), havde man troet, at tilstedeværelsen af protozoer i jorden nærmest var en tilfældighed. Man mente, at de var blevet bragt dertil fra deres naturlige levesteder, (f.eks. søer og åer) og at de eksisterede størstedelen af deres tid i jorden i *encysteret* tilstand (se senere), hvorfor de var ude af stand til at tage



1. Cyster af almindeligt forekommende jordamøbe. Den kraftigt udviklede vægdannelse er lysbrydende og ses derfor tydeligt.



2. Aktiv celle af jordamøbe. Billedet er taget lige efter podningen fra kulturen til objektglasset. Denne forstyrrelse medfører at aktive amøber trækker sig sammen til en kugle. I det ene hjørne af billedet ses cyste af samme art..



3. Efter nogle minutters forløb udskyder amøben pseudopodier. I de aktive amøbers celler ses en kontraktile vakuole (til udskillelse af affaldsstoffer). (Forstørrelse 800 x - foto T. Vincents Nissen.)

del i nogen af de processer, som foregår i jorden.

Uanset værdien af *Russell* og *Hutchinsons* teori gav deres arbejde stødet til en lang række undersøgelser verden over.

1927 udgav *Sandon* sin monografi over jordbundsprotozoer, hvor han i indledningen skrev, at der i de sidste seksten år trods ihærdig forskning kun var fremkommet meget få overbevisende informationer. Denne mangel skyldes bl.a. en forenkling af problemerne ved, at man gik ud fra den antagelse, at protozoerne kunne betragtes samlet eller, at man i værste fald kun behøvede at dele dem i tre hovedklasser: amøber, ciliater og flagellater.

Sandon undersøgte 148 jordprøver repræsenterende mange forskellige jordtyper fra vidt forskellige steder på kloden og kom til det overraskende resultat, at ingen af prøverne var frie for protozoer; man kunne endog finde samme art i jord fra både arktiske, tempererede og tropiske områder.

A. Cyster

Det er her værd at gøre opmærksom på et af de forhold, der betinger jordprotozoernes store geografiske spredning, nemlig deres evne til at encystere sig, hvilket vil sige at de omgiver sig med en tyk væg.

I denne tilstand kan protozoerne modstå udtørring, meget lave temperaturer (nær det absolute nulpunkt) og meget høje temperaturer (nær 100°). Selv behandling med 2 % HCl (en metode, der bruges til at skille excystrerede protozoer fra encystrerede, da 2 % HCl dræber de excystrerede) er ikke i stand til at dræbe cysterne (*Singh* 1946). *Goodey* (1915) fandt amøbe- og flagellat-arter som havde kunnet overleve i encystreret tilstand i 49 år.

Undersøgelser, af hvilke faktorer der influerer på encystrering – excystrering, er endnu på begynderstadiet. *Band* (1963) konkluderede, ud fra en undersøgelse af amøben *Hartmanella rhysodes*, at skønt sult og formindskelse af lufttilførslen kan fremkalde encystrering, er hovedfaktoren dog indtørring, d.v.s. en forøgelse af det osmotiske tryk.

Bakteriers indflydelse på encystrering – excystrering af protozoer

Der er almindelig enighed om, at tilstedeværelsen af visse bakterier fremkalder excystrering hos protozoer, og at andre bakteriers tilstedeværelse ikke gør det. Indtil videre er det dog ikke lykkedes at finde selektive karakterer hos bakterier, der betinger disses evne til at påvirke encystrering – excystrering. *Kunicki-Goldfinger et al.* (1957) fandt, at amøberne i deres undersøgelse excystrerede i nærværelse af alle de prøvede bakterier, uanset om disse var gram-positive eller gram-negative, om de dannede pigment eller ikke, eller om de var sporedannere eller ikke-sporedannere.

Kunicki-Goldfinger et al. gjorde dog opmærksom på, at der synes at være et vist forhold mellem bakteriernes spiselighed og deres evne til at stimulere excystreringen. Gode foderbakterier som *Aerobacter aerogenes* og *Escherichia coli* viser sig da også effektivt at fremme excystreringen af langt de fleste jordbundsprotozoer.

Effekten af aminosyrer og ekstrakter af bakterier på excystreringen og afhængighed af pH.

I relation til f.eks. amøbecysters evne til at modstå ydre påvirkninger, må det undre, at tilstedeværelsen af bakterier ofte i løbet af kort tid forårsager excystrering. Problemet har da også været genstand for flere undersøgelser. *Crump* (1950) undersøgte to limax-amøbearters forhold til *Aerobacter aerogenes*. Da den ene af amøbearterne ikke excystrerede uden tilstedeværelse af *Aerobacter*, konkluderede *Crump* at bakterierne udskiller et »stof«, der kan diffundere gennem cystevæggen og fremkalde excystrering. »Stoffet« syntes at være ustabil. For det første opnåede *Crump* de bedste resultater med unge bakteriekulturer, og for det andet skete der ingen excystrering, hvis man centrifugerede en væstkultur af *Aerobacter* og tilsatte supernatanten (væsken over bundfaldet) til en amøbekultur. *Singh et al.* (1958) fandt dog ingen grund til at antage, at »stoffet« er ustabil. Både vandige ekstrakter af *Aerobacter aerogenes* og *Escherichia coli* forårsagede ex-

cystering af den amøbeart (*Schizopyrenus russelli*), de arbejdede med. En biokemisk analyse af ekstrakterne viste, at de for en stor del består af aminosyrer, hvilket førte til en nærmere undersøgelse af forskellige rene aminosyrers effekt på excyteringen. Denne del af undersøgelsen gav det resultat, at mange aminosyrer stimulerer excyteringen af jordamøber, og at graden af excytering samtidig er pH-afhængig med et optimum ved pH 6-8.

Forskellige former for cyster.

Undersøgelser af ciliaters encytering, specielt de almindelige i jord forekommende arter tilhørende *Colpoda*, er ret omfattende (Stout 1955). Den bedst undersøgte er *Colpoda steinii*, en lille ciliat (op til 50 μ i længden), kendt for at være den geografisk måske mest udbredte af alle jordprotozoer. Den lever i naturen af bakterier og måske også af svampe, men det er i laboratoriet lykkedes at få dem til at leve i en axenisk kultur (d.v.s. en kultur fri for andre organismer). *Colpoda steinii* er i stand til at danne mindst tre typer af cyster:

1. *Hvilecyster*, som den normalt danner efter en vækstperiode under indflydelse af fødemangel og celleophobning. Cysten kan igen aktiveres ved, at tilsætte destilleret vand eller – som kendt fra amøberne – ved at tilsætte bakterier.

2. *Reproduktive cyster*, som normalt dannes under gunstige betingelser efter en bestemt vækstperiode. I disse cyster foregår celledelingen.

3. *Den tredje form for cyster* (Bridgeman 1957) dannes for at modstå tilstande, som undertrykker vækst og celledeling, som f.eks. høj saltholdighed (2-3 % NaCl), høj eller lav temperatur $<4^\circ$ eller $>35^\circ$ eller lavt iltryk. Hvis man fjerner inhibitorerne, excyterer ciliaten.

B. Geografisk udbredelse

Der er tre spørgsmål, der har interesse ved undersøgelse af protozoernes udbredelse i jorden. For det første: hvor mange arter findes i en given jordprøve, for det andet: er nogle

af arterne dominerende eller særlig talrige og for det tredje: kan man finde arter, som er begrænsede i deres udbredelse.

De almindelige arter af protozoer synes at være kosmopolitiske. De sjældnere arter er fundet på så spredte og forskellige lokaliteter, at deres nær- eller fravær i prøverne nærmest synes at bero på tilfældigheder eller på graden af den undersøgelse, jordprøven bliver underkastet (Sandon 1927). Som nævnt undersøgte Sandon 148 jorder og fandt 250 arter. For at give et eksempel på udbredelsen af en enkelt art, fandt Sandon flagellaten *Actinomonas mirabilis* i elleve jorder, af hvilke tre var uopdyrkede jorder fra *Gough Island* i det sydlige Atlanterhav, tre fra gødede kartoffelmarker på *Tristan da Cunha* ligeledes i det sydlige Atlanterhav, en fra den øde *Elephant Island* på *Antarktis*, en fra hvedemark i *New South Wales* og en fra en frodig bjergside på *St. Helena*.

Sandon fandt det ikke muligt, trods det forholdsvis store materiale han behandlede, at finde protozoarter, som var karakteristiske for bestemte geografiske områder eller for bestemte jordtyper. Han slog dog fast, at et særligt forhold gjorde sig gældende for *Testacea* (skalbærende amøber). De var særligt talrige i sure tørvejorder, rige på organisk materiale, og de var fåtallige, oftest fraværende, i neutrale eller basiske dyrkede jorder.

Det er en almindelig antagelse, at protozoer er bakterieædere, og at et stort bakterietal i en jord også følges af et stort antal protozoer. Sandon gjorde dog opmærksom på, at også i dette tilfælde var *Testacea* en undtagelse. I prøver af jorder på *Spitsbergen* var bakterietallene de laveste, man havde fundet, men samtidig var antallet af *Testacea* det højeste.

De morfologiske og fysiologiske karakterer, som synes at favorisere eksistensen af protozoer i jorden, er: lille størrelse og enkel struktur, evne til hurtig formering under gunstige betingelser, og som omtalt, evnen til en- og excytering i forhold til svingninger i jordens vandindhold, saltholdighed, luftindhold og fødemængde; tolerance overfor store forskelle i pH

og temperatur, og evne til at absorbere næring i både partikulær- og opløst form.

Der er almindelig enighed om, at jordbundsfaunaen, i modsætning til ferskvands- og marinfaunaen, er karakteriseret ved mangelen på store og strukturelt komplicerede protozoer. Almindelige flagellater som *Cercomonas* og *Oikomonas* er kun ganske få μ i længden, og selv *Peranema trichorum*, en af de største flagellater i jorden, er mindre end 70 μ i længden. Almindeligt forekommende jordamøber er mindre end 50 μ (Singh 1952). Hvor beslægtede arter adskiller sig i størrelse, er de mindste altid de mest almindelige.

Siden Sandons klassiske monografi (1927) er der foretaget adskillige undersøgelser af protozoernes udbredelse. Stout (1958) undersøgte tre forskellige græssteppejorder på New Zealand, som gennem tre årtier var blevet beskrevet i detaljer af Thornton (1958). De tre jorder var opstået af forskellige oprindelige materialer, udviklet under forskellige klimatiske forhold og havde forskellige vegetationshistorier. Mikrofaunaen, som optrådte i de tre jorder, forår, sommer og efterår, blev undersøgt i laboratoriet. Der blev lagt speciel vægt på undersøgelse af amøber og ciliater. Af resultatet fremgik: for det første, at de tre jorder havde en typisk græssteppemikrofauna i overensstemmelse med resultatet af andre græssteppeundersøgelser på New Zealand, og for det andet, at ciliatfaunaen i alle tilfælde var større end amøbefaunaen; det var imidlertid i konflikt med den almindelige opinion (Meiklejohn 1955), at ciliaterne ikke er et vigtigt element af mikrofaunaen.

Amøbefaunaen var temmelig ensartet i de tre jorder, medens ciliatfaunaen var begrænset til jord med en høj basemætningsgrad. Den gennemsnitlige fordeling af protozoarterne var karakteristisk for hver jordtype, men antallet var en smule højere i jorden under græstuerne (rhizosphæren) end imellem dem. Fordelingen af resten af faunaen var generelt ensartet i de tre jorder.

Stout fulgte (1960) undersøgelsen af de tre græssteppejorder op med en ny undersøgelse,

hvis formål var at studere de mikrobiologiske ændringer som følge af opdyrkning, og som følge af plantedækket. De to jordtyper, der blev undersøgt, er beskrevet af Thornton (1960). Resultatet af undersøgelsen fastslog den væsentlige stabilitet af protozopopulationen i et givet jord- og vegetationskompleks. Denne stabilitet blev end ikke forstyrret ved en ændring af plantedækket, dog forudsat, at denne ændring ikke medførte nævneværdig forandring i jordens organiske cyklus. Hvis opdyrkning og gødsning imidlertid forårsagede en forøgelse af jordens frugtbarhed, registreredes dette af protozopopulationen ved en forøgelse af antallet af arter; det må samtidig bemærkes, at der var nøje sammenhæng mellem ændringer i protozopopulationens- og bakteriepopulationens sammensætning.

C. Udbredelse i forhold til dybden

Med hensyn til udbredelsen af protozoer i jorden i forhold til dybden kan nævnes et arbejde af Stout (1963). Stout undersøgte tre forskellige bøgeskovjorder: en mørjord, en sur muldjord og en kalkholdig muldjord. Af de 40 arter af ciliater, der blev registreret, fandtes de 39 af arterne i det organiske lag, men kun 25 i det mineralske top lag. De 34 amøbearter der blev registreret, fordelte sig forholdsmeæssigt på samme måde.

D. Fugtighedens indflydelse på udbredelsen

I samme forbindelse gør Stout opmærksom på, at udtørring af jorden ikke er den faktor, der begrænser protozoarternes antal. Stout fandt, at antallet af arter var det højeste i den af græsstepperne der havde det laveste vandindhold. Af andre undersøgelser over fugtighedens indflydelse på aktiviteten kan nævnes et arbejde af Cutler et al. (1922). De fandt i deres daglige tællinger ingen nævneværdig indflydelse på hverken antallet excystrerede eller encystrerede protozoer; det må dog bemærkes, at fugtighedsprocenten i alle deres prøver var meget lave. Fem år senere viste Cutler og Dixon (1927), efter undersøgelse af den samme jord som Cutler et al. havde undersøgt, at evnen til

reproduktion faldt, når fugtigheden faldt til halvdelen af vandkapaciteten. Af de fire arter, der inkluderedes i forsøget, var kun flagellaten *Cercomonas crassicauda* i stand til at excystere og reproducere ved et fugtighedsindhold på $\frac{1}{6}$ af vandkapaciteten. Deres forsøg er i overensstemmelse med en undersøgelse af protozoers bevægelse i jord som funktion af jordens fugtighed og partikelstørrelse (*Losina-Losinsky og Martinov 1930*).

E. Protozoers aktivitet, målt med populationens størrelse i relation til skiftende årstider

Der er stor uenighed om, hvorvidt årstidernes vekslen influerer på protozoernes aktivitet og antal. *Varga (1935)* undersøgte to skovjorder: en nåleskovsjord og en løvskovsjord, og fandt, at der var protozoer tilstede til enhver årstid, men at antallet af arter var størst forår og efterår og mindst sommer og vinter. Det var det samme resultat *Cutler et al. (1922)* var kommet til. *Varga (1935)* fandt, i en undersøgelse af de problemer, der knytter sig til humusdannelsen, at i prøver, taget henholdsvis sommer og vinter, var antallet af protozoer 2-3 gange så stort om sommeren. Det lykkedes dog ikke *Singh (1949)* og *Singh og Crump (1953)* at finde noget forhold mellem amøbepopulationen og årstidernes vekslen i to *Rothamstedjorder*.

F. Protozoers forhold til pH

Skønt der er stor forskel i pH i forskellige jorder, er variationerne inden for samme jord oftest ringe (mindre end 1 pH-enhed). Ved undersøgelser af protozoer i jorden har det i mange år været almindeligt at angive pH af den pågældende jord. Til trods herfor er den viden, man har i dag om individuelle arters pH-tolerance endnu sparsom. *Nasir (anført af Cutler og Crump (1935))* gjorde opmærksom på, at *Colpoda cucullus* fandtes i jorder varierende i pH fra 3,5-9,5; det samme forhold gjorde sig gældende for *Colpoda steinii* *Stout (1955)*. Fælles for begge ciliatarter er, at de har stor geografisk udbredelse. Normalt synes *Testacea* at være mindre tolerant overfor variationer i pH, bl.a. fandt *Cutler og Crump*

1935, at *Arcella vulgaris* foretrak miljøer under pH 6.

3. Jordbundsprotozoernes ernæring

A. Microflora som føde for protozoer

Bakterier

Det har været almindeligt kendt i mange år, at mange bakterier tjener som føde for protozoer, og man er ligeledes klar over, at protozoerne er i stand til at foretage en udvælgelse af foderbakterierne. Litteraturen omhandlende undersøgelser af bakteriers spiselighed er da også omfattende.

1916 gjorde *Oehler* opmærksom på, at amøber foretrak gram-positive frem for gram-negative bakterier, hvilket dog er i strid med resultatet af senere undersøgelser, (*Severtzova 1928, Singh 1941*). *Severtzova* undersøgte spiseligheden af 26 arter af bakterier og konkluderede, at hverken tilstedeværelse af proteolytiske enzymer, eller evnen til denitrifikation, nitrifikation, og ammonifikation, ej heller bevægelighed eller dannelse af pigment og specielt ikke forholdet til gramfarvningen kan regnes for selektive karakterer hos bakterier.

Ud fra flere store undersøgelser konkluderede *Singh*, at bakterier kunne klassificeres i fire grupper. 1. Stammer der blev hurtigt og fuldstændigt spist; 2. Stammer der langsomt men fuldstændigt blev spist; 3. Stammer der kun delvis blev spist og 4. Uspiselige stammer; men ligesom *Severtzova* kunne han ikke finde noget afgørende forhold mellem spiseligheden og bakteriernes morfologiske eller fysiologiske karakterer. *Singh (1942)* undersøgte to jordamøbearter og flagellaten *Cercomonas crassicauda* forhold til 48 bakteriearter, som inkluderede en blandet gruppe af jordbakterier, en gruppe af Rhizobium-arter og en gruppe af plantepatogene jordbakterier. Resultatet af denne undersøgelse bragte ingen afklaring på spørgsmålet, hvorfor visse bakteriearter ikke spises af protozoer. Det må dog tilføjes, at lucernebakterien var den eneste af 16 arter af *Rhizobium*, der blev spist. Af de 12 plantepa-

togene bakteriearter, Singh prøvede, blev 8 helt og 4 delvist spist af *Cercomonas*.

Man strides stadig om, hvorvidt dannelse af pigmenter har forbindelse med spiseligheden. *Kidder og Stuart* (1939) fandt, at pigmenterede stammer af *Pseudomonas* og *Serratia* var toksiske både for aktive og encystrerede ciliater (*Colpoda sp.*), og dette blev fastslået af *Singh* (1945) som gjorde opmærksom på at næsten alle pigmenterede bakterier, både røde, grønne, violette, blå og fluorescerende, var uspiselige for to jordamøbearter og for *Colpoda steinii*. *Singh* (1945) undersøgte pigmenterne fra de uspiselige bakterier nøjere og fandt, at flere af dem var toksiske. *Kunicki-Goldfinger et al.* (1957) indvendte, at amøber i mindre grad influeredes af bakterielle pigmenter, derimod mente de ligesom *Crump* (1950), at alderen af bakteriekulturen havde stor betydning for bakteriernes spiselighed. I et vækstforsøg viste *Kunicki-Goldfinger et al.* (1957) at amøber vokser på kultur af *coccer* og *gram-negative stave* (pigmenterede såvel som upigmenterede). *Kunicki-Goldfinger et al.* konkluderede af deres forsøg, at størrelsen af bakterierne og den fysiske karakter af deres cellevæg havde større betydning for amøbers selektion end kemiske forskelligheder bakterierne imellem (f.eks. pigmentdannelsen).

Svampe og gærsvampe

Forholdet mellem svampe og jordprotozoer er indtil i dag kun undersøgt i mindre omfang. *Severtzova* (1928) undersøgte en unavngiven jordamøbearts forhold til 12 skimmelsvampearter, 4 gærarter, 2 actinomyceter. *Severtzova* fastslog, at man ikke i noget tilfælde havde observeret, at svampehyfer blev fortæret af amøberne; ej heller syntes svampesporer at være gode foderemner. Begge resultater er yderligere blevet undersøgt af *Heal* (1963). *Heal* undersøgte forholdet mellem 4 amøbearter og 35 arter af svampe og gærsvampe og fandt ligesom *Severtzova*, at amøberne kun sjældent reproducerede på sporangiesporer og aldrig på hyfer. Både *Severtzova* og *Heal* observerede, at uspiselige sporer i visse tilfælde blev optaget af

amøber for få timer senere at blive udstødt. *Heal* undersøgte dette forhold nærmere og fandt, at selv om sporerne først blev udskilt 4 timer efter optagelsen, var spiringsevnen hos disse den samme, som hos sporer, der ikke havde været optaget i amøber.

Gærsvampe synes derimod i højere grad at tjene som føde for protozoer. *Konokotina* 1924 (bekræftet af *Sandon* 1932) fandt, at en amøbe (evt. *Amoeba terricola*) spiste gærsvampe isoleret fra en vinmark, men at alkoholisk gæring hæmmede amøbens aktivitet. Af de fire gærarter *Severtzova* undersøgte, var de to spiselige, og *Heal* fandt at alle 19 testede gærarter blev spist af mindst to af de fire amøbearter; samtidig antydede *Heal*, at beslægtede gærarter viste samme grad af spiselighed overfor en given amøbeart.

De kulturer af *Acanthamoeba*, som *Heal* (1963) arbejdede med, var isoleret af *Neff* (1957). *Neff* gjorde opmærksom på, at amøberne ikke spiste en eneste af de elleve gærarter, han havde undersøgt, deriblandt ej heller *Saccharomyces cerevisiae*, som *Heal* derimod fandt velegnet til foder.

Det forhold, at en gærart under tilsyneladende samme forsøgsbetingelser i visse tilfælde viser sig spiselig og i andre tilfælde uspiselig, er et godt eksempel på de vanskeligheder, der knytter sig til undersøgelser af denne art.

Alger

Indtil videre kendes ingen jordprotozoer, der er i stand til at fortære alger.

B. Vækst af protozoer i defineret kemisk medium

De senere års store udvikling af biokemien har gjort det muligt i stigende omfang at undersøge jordbundsprotozoers essentielle fødemæssige krav.

Jordprotozoer ernærer sig på mange måder, og alt efter måden kan man placere dem i to kategorier: Autotrofe- og heterotrofe protozoer. Ved den autotrofe levevis benyttes uorganisk materiale. Protozoerne er i stand til at syntetisere simple kulhydrater ud fra kuldioxid og

vand ved hjælp af fotosyntese, idet de indeholder chlorofyll. Ud fra de simple kulhydrater er de derefter i stand til at danne stivelse og med stivelse beslægtede stoffer. Til syntesen af fedt og proteiner indgår natrium- og kaliumklorid, nitrater, ammoniumsalte og vitaminer. Det må dog bemærkes, at langt størsteparten af de protozoer, der ernærer sig autotroft, primært er fersk- eller saltvandsformer, og som omtalt i indledningen er der ofte vanskeligheder ved den systematiske placering af dem. Heterotrofe protozoer kræver organisk fødemateriale; indenfor heterotrofe protozoer skelner man mellem holozoiske og saprozoiske protozoer. *Saprozoiske* protozoer kræver på lignende måde som de autotrofe, at deres føde er opløst, for at den kan optages, mens *holozoiske* protozoer optager føde både i fast og flydende form. Langt de fleste jordprotozoer er holozoiske.

Ved undersøgelser af protozoers vækst i et defineret kemisk medium er det derfor en nødvendighed at få protozoerne til at leve saprozoisk (evt. autotroft) hvilket vil sige at der i protozokulturen man undersøger ikke må være andre organismer (axenisk kultur); dette problem i sig selv har voldt store problemer.

Storm og Hutner (1953) fandt, at flagellaten *Peranema trichophorum* f.eks. krævede *thiamin*, *riboflavin*, *B₁₂-vitamin*, *tryptophan*, *methionin* og visse *nucleinsyrer*. Lignende komplekse behov er fundet for *Acanthamoeba* sp. (*Adam 1959*) og *Hartmanella rhysodes* (*Band 1959*). Mangelen af specifikke vækstfaktorer vil inducere encytering, selv når en passende energierstatning er til rådighed (*Garnjobst 1947*). Hvorvidt disse ernæringsmæssige betingelser har nogen økologisk betydning står endnu ikke klart.

4. Jordprotozoers forhold til vegetationen og til andre jordorganismer

De forskellige grupper af jordorganismer lever ikke uafhængigt af hinanden, men danner et lukket system mere eller mindre i ligevægt med omgivelserne.

A. Relation til vegetationen

Den største interesse for forholdet mellem protozoer og vegetationen har især været knyttet til rhizosphæren. Resultatet af de undersøgelser man har foretaget af den rhizosphære zone synes i alle tilfælde at være, at der er en tydelig koncentration af mikroorganismer i forhold til området udenfor rødderne, (*Katznelson 1946*, *Lindford 1942*, *Nikoljuk 1963*). Den teori er fremsat at koncentrationen af mikrofloraen i rhizosphæren enten tiltrækker eller forøger den allerede tilstedeværende population af protozoer, der som nævnt for en stor del lever af bakterier. At der skulle ske en indskrænkning i bakterieantallet p.g.a. forøgelsen i protozoantallet synes dog ikke at være tilfældet. *Harvey og Greaves (1941)* undersøgte kvælstofbindingen hos *Azotobacter croococcum* i tilstedeværelse af jordprotozoer og fandt, at *Azotobacter* var talrigere i prøver med end i prøver uden protozoer. *Nikoljuk 1963* fandt ligeledes, at der skete en forøgelse i N-indholdet i jorden, når han podede en *Azotobacter*kultur med protozoer. *Nikoljuk* antager, at protozoerne udskiller et stof, der virker vækstfremmende på *Azotobacter*. Det må bemærkes, at *Rouatt, Katznelson og Payne (1960)* ganske vist fandt betydelig større populationer af protozoer, svampe, aktinomyceer, ammonificerende bakterier og denitrificerende bakterier i den rhizosphære zone af hvedeplanter, men *Azotobacter*antallet var det samme både i og udenfor rhizosphæren. Sandsynligvis har plantens alder betydning for mikroorganismernes antal i den rhizosphære zone. Både *Katznelson (1946)* og *Jarnea og Stefanic (1965)* fandt, at protozopopulationen var størst i plantens vækstperiode.

Det er endnu uvist, om protozoer har større indflydelse på plantens vækst. *Gellert (1958)* undersøgte væksten af majs og havre henholdsvis med og uden protozoer, men fandt kun ubetydelig forskel. Derimod viste *Nikoljuk (1956, 1965)*, at behandling af bomuldsfrø med amøber og ciliater resulterede i både større og stærkere planter end planterne fra ubehandlede frø.

B. Relation til mikrofloraen

Som nævnt består hovedparten af jordprotozoernes føde af bakterier og i mindre grad af gærsvampe, svampe og evt. af svampesporer, mycelium og alger. Visse iagttagelser tyder dog på, at tilstedeværelse af protozoer også kan være til fordel for mikrofloraen. Som nævnt er det antaget af *Harvey og Greaves 1941* og af *Nikoljuk 1963*, at protozoer stimulerer væksten af *Azotobacter*. Det skal endelig nævnes, at der eksisterer svampe (*Duddington 1957*), der fanger og fortærer mikroskopiske dyr, for det meste protozoer og rundorme.

C. Relation til mikrofauna

Andre medlemmer af mikrofaunaen er normalt væsentlig større end jordprotozoerne f.eks. rundorme og fladorme. Det synes sandsynligt, at protozoer udgør en del af såvel mikro- som makrofaunaens føde, men hvorvidt andre dyr direkte tjener som føde for jordprotozoer er dårligt undersøgt. *Miles (1963)* gjorde dog opmærksom på et interessant forhold i den forbindelse. Han observerede, at regnormen *Eisenia foetida* ikke udvikledes til kønsmodning, hvis der ikke var protozoer tilstede.

5. Protozoernes betydning for jordens frugtbarhed

Russel og Hutchinson (1909) antog, at den gavnlige virkning af partiel sterilisation på »træt« jord ganske enkelt skyldes, at protozoerne dræbes, hvorved bakterierne får gode vækstmuligheder. Det blev hurtigt fastslået, at effekten af partiel sterilisation er væsentlig mere kompliceret end antaget. Laboratorieforsøg med renkulturer af bakterier henholdsvis med og uden protozoer har vist, at protozoer ikke generelt undertrykker bakteriers biokemiske aktivitet men som nævnt i visse tilfælde endda har stimulerende virkning (*Harvey og Greaves (1941)*, *Nikoljuk (1963)*). *Singh (1941, 1942, 1945)* viste yderligere, at man ikke ukritisk kan antage, at protozoer formindsker bakteriepopulationen i jorden, men at specielt amøber er selektive i deres valg af foderbakterier.

Singh og Crump (1953) viste, at en partiel sterilisation af en jord med damp ganske rigtigt efterfølges af en forøgelse af antallet af bakterier, men i modsætning til tidligere antagelser efterfølges den også af en bemærkelsesværdig forøgelse af protozopopulationen. *Oxley og Gray (1952)* havde observeret en lignende relation mellem protozo- og bakteriepopulationen, og samtidig gjorde de opmærksom på, at der i observationsperioden med mellemrum skete forandring i mikrofloraens sammensætning, og at protozoafaunaens sammensætning på karakteristisk vis fulgte disse svingninger; ydermere fandt *Oxley og Gray*, at der var et vist sammenhæng mellem indholdet i prøverne af ammonium, nitrit og nitrat på den ene- og den biologiske aktivitet på den anden side.

Protozoer, såvel som de fleste andre vandlevende dyr, synes som nitrogenholdigt stofskifteprodukt hovedsageligt at udskille ammoniak. *Doyle og Harding (1937)* fandt, at ciliaten *Tetrahymena pyriformis* udskilte det meste af den optagne bakterielle nitrogen som ammoniak ca. seks timer efter optagelsen. *Tribe (1967)* gjorde opmærksom på et interessant forhold i den forbindelse. Han undersøgte den mikrobiologiske nedbrydning af cellulose begravet i sand. I løbet af 2 uger var det mineralske N i form af nitrat fuldstændig fjernet fra sandet. Efter yderligere 14 uger – efter at al cellulosen var nedbrudt, og populationen af mikroorganismer havde nået sin maksimale størrelse, – blev der igen frigjort nitrat til sandet. Da *Tribe* fandt, at de organismer, der fandtes i sandet, for størstedelen bestod af bakterier og protozoer, foreslog han at ammoniakalsk ekskretion fra protozoer (ammoniakken nitrificeres til nitrat) og autolyse af bakterierne var den biologiske mekanisme ved nitratfrigørelsen. Et forhold *Russell (1961)* har beskrevet nærmere.

I meget sure jorder er den bakterielle aktivitet lille. Hovedparten af aktive organismer i disse jorder udgøres oftest af rhizopoder specielt Testacea. Det er muligt at de kan nedbryde cellulose (man har været i stand til at påvise cellulase-udskillelse (*Tracey 1955*)) og på den måde direkte spille en rolle i den orga-

niske cyklus. Ellers må det siges, at med den viden man har i dag, synes protozoers påvirkning af den organiske cyklus hovedsagelig at være indirekte.

6. Protozoernes antal og mængdeforhold

Antallet af protozoer i en given jord er oftest angivet pr. gram våd eller tør jord. Denne angivelse er tilfredsstillende, hvis man vil sammenligne antallet af protozoer med f.eks. bakterietallet i den samme jord, men vil man sammenligne antallet af protozoer i henholdsvis mineralsk- og organisk jord, er angivelsen utilfredsstillende, da tætheden af de to jordtyper er meget forskellig. Man har i det tilfælde valgt at angive antallet af protozoer pr. arealenhed f.eks. pr. m². Antal pr. arealenhed er også nødvendig ved sammenligning med andre dyrepopulationer og ligger ligeledes til grund for beregningen af *biomassen* (f.eks. g. pr. m²).

Kvantitative angivelser af protozoers udbredelse skal tages med store forbehold, da beregningerne oftest er meget usikre. For det første er de indsamlingsmetoder man benytter endnu behæftet med mange ukontrollable fejl, og for det andet er tælleknikken stadig usikker og langsommelig. For dog at give et indtryk af de indvidtal og vægtmængder jordprotozoerne optræder med i forhold til andre jordbundsorganismer, skal der anføres en oversigt efter *Overgaard Nielsen* (1968). Tallene er gennemsnitstal og henviser til skovbund.

	Antal pr. m ²	Vægt g pr. m ²	Omsætning kcal. pr. m ² pr. år
Mikroflora	10 ¹²	400	
Bakterier			
Mikrofauna	10 ¹⁰	10	350
Protozoer			
Megafauna	2 x 10	60	150
Regnorme			

Summary

A review is given of the present knowledge on soil protozoa with special reference to: 1. Distri-

bution of soil protozoa. 2. Food requirements of soil protozoa. 3. Relation to vegetation and soil organisms. 4. Influence of protozoa on soil fertility. 5. Numbers and biomass of soil protozoa.

Litteratur

1. *Adam K. M. G.* 1959: The growth of *Acanthamoeba* sp. in chemically defined medium. *J. gen. Microbiol.* 21. p. 519.
2. *Band R. N.* 1959: Nutrial and related biological studies on the free-living soil amoeba, *Hartmanella rhyodes*. *J. gen. Microbiol.* 21. p. 80.
3. *Band R. N.* 1963: Extrinsic requirements for excystation by the soil amoeba, *Hartmanella rhyodes*. *J. Protozool.* 10. p. 101.
4. *Bridgeman, A. J.* 1957: Studies on dried cysts of *Tillina magna*. *J. Protozool.* 4. p. 17.
5. *Crump, L. M.* 1950: The influence of the bacterial environment of the amoeba from soil. *J. gen. Microbiol.* 4. p. 16.
6. *Cutler, D. W., Crump, L. M. and Sandon, H.* 1922: A quantitative investigation of the bacterial and protozoan population of the soil with an account on the protozoan fauna. *Phil Trans R. Soc. B* 211. p. 317.
7. *Curler, D. W. and Dixon, A.* 1927: The effect of soil storage and water content of protozoan population. *Ann. appl. Biol.* 14. p. 247.
8. *Cutler, D. W. and Crump, L. M.* 1935: In »Problems in soil microbiology« 104 pp. Longmans Green and Co, London.
9. *Doyle, W. L. and Harding, J. T.* 1937: Quantitative studies on the ciliate *Glaucoma*. Excresion of ammonia. *J. exptl. Biol.* 14. p. 462.
10. *Duddington, C. L.* 1957: The predacious fungi and their place in microbial ecology. The Seventh Symposium of the Society for General Microbiology. (R. E. O. Williams and C. C. Spicer eds.). »Microbial Ecology«.
11. *Garnjobst, L.* 1947: The effect of certain deficient media on resting cyst formation in *Colpoda duodenaria*. *Physiol. Zool.* 20. p. 5.
12. *Goodey, T.* 1915: Remarkable retention of vitality of protozoa in old stored soils. *Ann. appl. Biol.* 1. p. 395.
13. *Hall, R. P.* 1953: Protozoology 1st. ed. N. Y. Prentice Hall Inc.
14. *Harvey, R. J. and Greaves, J. E.* 1941: Nitro-

- gen fixation by *Azotobacter croococcum* in the presence of soil protozoa. *Soil Sci.* 51. p. 85.
15. *Heal, O. W.* 1963: Soil fungi as food for amoeba. In »Soil organisms«, J. Doeksen and J. van der Drift.
 16. *Jarnea, S.* and *Stefanic, G. H.* 1965: Preliminary researches on the protozoa in rhizosphere and soil. Symposium on methods in soil biology. Bukarest p. 41.
 17. *Jensen, H. L.* 1925: Nyere undersøgelser over jordbundens protozoafauna og dennes funktioner. *Tidsskrift for Planteavl* 31.
 18. *Katznelson, H.* 1946: The »rhizosphere« effect of mangel on certain groups of soil microorganisms. *Soil Sci.* 62. p. 343.
 19. *Kidder, G. W.* and *Stuart, C. A.* 1939: Growth studies on ciliates. *Physiol. Zool.* 12. p. 329.
 20. *Kunicki-Goldfinger, W., Drozaniski, W., Blaszcak, D., Mazur, J.* and *Skibinska, J.* 1957: Bacterial food of soil amoeba. *Acta microbiol. Pol.* 6. 331.
 21. *Lindford, M. B.* 1942: Methods of observing soil flora and fauna associated with roots. *Soil Sci.* 53. p. 93.
 22. *Losina-Losinsky, L.* and *Martinov, P. F.* 1930: A method of studying the activity and rate of diffusion of protozoa and bacteria in the soil. *Soil Sci.* 29. p. 349.
 23. *Meiklejohn, J.* 1955: Soil microbiology. Some microbial methods and results. *J. Quekett. micr. Cl. Jer* 4: 4: p. 171.
 24. *Miles, H. B.* 1963: Soil protozoa and earthworm nutrition. *Soil Sci.* 95. p. 407.
 25. *Neff, R. J.* 1957: Purification axenic cultivation, and description of a soil amoeba *Acanthamoeba* sp. *J. Protozool.* 4. p. 176.
 26. *Nielsen, Chr. Overgaard* 1968: I Danmarks Natur. bd. 2.
 27. *Nikoljuk, V. F.* 1956: Soil protozoa and their rate in cultivated soils of Uzbekistan. 144. pp. Tashkent.
 28. *Nikoljuk, V. F.* 1963: Bodenbewohnende Urtier (Protozoa) und ihre biologische Bedeutung. *Pedobiol.* 3. s. 259.
 29. *Nikoljuk, V. F.* 1965: In »Progress in Protozoology« London pp. 118-119. Excerpta Medica Foundation Amsterdam.
 30. *Oxley, C. D.* and *Gray, E. A.* 1963: The microbiology of four steamed soils. *J. agric. Sci.* 42. p. 363.
 31. *Oehler, R.* 1916: Amöbenzucht auf reinem Boden. *Arch. Protistenk* 37. s. 175.
 32. *Roult, J. W., Katznelson, H.* and *Payne, T. M. B.* 1960: Statistical evaluation of the rhizosphere effect. *Proc. Soil. Sci. Soc. Am.* 24 p. 271.
 33. *Russell, E. J.* and *Hutchinson, H. B.* 1909: The effect of partial sterilization of soil on the production of plant food. *J. agric. Sci.* 3. p. 111.
 34. *Russell, E. W.* »Soil Conditions and Plant Growth« Longmans.
 35. *Sandon, H.* 1927: The composition and distribution of the protozoan fauna in the soil. Edinburgh.
 36. *Sandon, H.* 1932: »The food of protozoa«. pp. 1-187 Cairo.
 37. *Severtzova, L. B.* 1928: The food requirement of soil amoeba with reference to their interrelation with soil bacteria and soil fungi. *Zbl. f. Bact.* 73. abt. II p. 162.
 38. *Singh, B. N.* 1941: Selectivity in bacterial food by soil amoebae in pure mixed cultures and in sterilised soil. *Ann. appl. Biol.* 28. p. 52.
 39. *Singh, B. N.* 1941: The influence of different bacterial food supplies on the rate of reproduction in *Colpoda steinii* and the factor influencing excystation. *Ann. appl. Biol.* 28. p. 65.
 40. *Singh, B. N.* 1942: Toxic effects of certain bacterial metabolic products on soil protozoa. *Nature* 149. p. 186. London.
 41. *Singh, B. N.* 1945: The selection of bacterial food by soil amoebae, and the toxic effects of bacterial pigments and other products on soil protozoa. *Brit. Journ. exp. Path.* 26. p. 316.
 42. *Singh, B. N.* 1946: A method of estimating the number of soil protozoa, especially amoeba, based on their differential feeding on bacteria. *Ann. appl. Biol.* 33. p. 112.
 43. *Singh, B. N.* 1949: The effect of artificial fertilizers and dung on the numbers of amoebae in Rothamsted soils. *J. gen. Microbiol.* 3. p. 204.
 44. *Singh, B. N.* 1952: Nuclear divisions in nine species of small free-living amoebae etc. *Phil. Tr. Roy. Soc. London. Series B.* 236. p. 405.
 45. *Singh, B. N.* and *Crump, L. M.* 1953: The effect of partial sterilization by steam and

- formalin on the numbers of amoebae in the field soil. J. gen. Microbiol. 8. p. 421.
46. *Singh, B. N., Mathew, S. and Anand, N. 1958:* The role of *Aerobacter* sp. *Escherichia coli* and certain amino acids in the excystment of *Schizopyrenus russelli*. J. gen. Microbiol. 19. p. 104.
 47. *Storm, J. and Hutner, S. H. 1953:* Nutrition of *Peranema*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 56. p. 901.
 48. *Stout, J. D. 1955:* Environmental factors effecting the life history of three soil species of Colpoda, (ciliata). Trans. Ray. Soc. N. Z. 82 p. 1165.
 49. *Stout, J. D. 1958:* Biological studies of some tussocks-grassland soils. VII Protozoa. N. Z. II. agric. Res. 1. p. 974.
 50. *Stout, J. D. 1960:* Biological studies of some tussocks-grassland soils: XVIII Protozoa of two cultivated soils. N. Z. II. agric. Res. 3. p. 237.
 51. *Thornton, R. H. 1958:* Biological studies of some tussocks-grassland soils: I Introduction, soils and vegetations. N. Z. II. agric. Res. 1. p. 913.
 52. *Thornton, R. H. 1960:* Biological studies of some tussocks-grassland soils. XII. Soils and vegetation of two cultivated sites. N. Z. II. agric. Res. 3. p. 197.
 53. *Tracey, M. V. 1955:* Cellulose and chitinase in soil amoebae. Nature 175. p. 815.
 54. *Tribe, H. T. 1961:* Microbiology of cellulose decomposition in soil. Soil Sci. 92. p. 61.
 55. *Varga, L. 1935:* Daten zur Kenntnis der Protozoen fauna des Waldbodens Eberswalde. Zbl. f. 93. II s. 32.
 56. *Varga, L. 1935:* Die Protozoen und ihre Verteilung im Waldboden von Tharandt. Zbl. f. Bact. 93. abt. II s. 128.