

原著論文

# 神奈川県におけるフナムシ腸内寄生菌 フナムシヤドリ (新称) *Asellaria ligiae* の生息状況

陶山 舞・高木 望・出川洋介・佐藤大樹・折原貴道

Mai Suyama, Nozomu Takagi, Yousuke Degawa, Hiroki Sato and Takamichi Orihara: Habitat of a gut-living fungus of *Ligia exotica*, *Asellaria ligiae*, in Kanagawa Prefecture, Japan

## 緒言

アセラリア目 Asellariales は、甲殻類のワラジムシ目 Isopoda (ダンゴムシ類やミズムシ類など) およびトビムシ目 Collembola 昆虫の後腸の表面に付着生活する菌群である。かつては、接合菌門 Zygomycota トリコミケス綱 Trichomycetes に所属していたが、菌類の高次分類体系の改定により現在はトリモチカビ門 Zoopagomycota キクセラ亜門 Kickxellomycotina に属し、1科3属が知られる(出川, 2008; Spatafora *et al.*, 2016)。このうち *Asellaria* 属はワラジムシ目の動物の腸管に付着する菌からなる属で、現在までに9種が知られている(Lichtwardt *et al.*, 2001; Valle & Cafaro, 2008)。本属の1種である *Asellaria ligiae* Tuzet & Manier ex Manier は、フナムシ *Ligia exotica* Roux を含むフナムシ属 *Ligia* の複数種の後腸に認められ(Lichtwardt *et al.*, 2001)、国内では青森県、千葉県、神奈川県、高知県から報告されている(Lichtwardt *et al.*, 1987)。この報告では、フナムシの生息場所として、海岸沿い、岩上や護岸、埠頭の付近が記述されているが、採集地情報は単に海岸と記述されているにすぎない(Lichtwardt *et al.*, 1987)。同時に、個体群によっては感染率が極めて低いか、感染がないと報告されている(Lichtwardt *et al.*, 1987)が、現状では、フナムシ類の *A. ligiae* 感染状況を定量的に評価する方法は確立されていない。

神奈川県からの本菌の採集記録は横浜市(金沢八景)(Lichtwardt *et al.*, 1987)と三浦市(江奈湾)(出川, 2006)に限られている。神奈川県の2006年度版レッドリスト作成調査時には、江奈湾(三浦市)の泥干潟に生息するフナムシ類から本種の発生が認められ、神奈川県内では泥干潟環境が減少していることから本種も減少傾向にあるのではないかと推定され、絶滅危惧II類に指定された(出川, 2006)。一方、寄主であるフナムシ類は泥干潟に限らず県内の海岸沿いには普遍的に生息して

いる(布村・下村, 2017)。そこで、本研究では、泥干潟以外の生息環境を含む県内複数箇所において調査を行い、本菌の生息状況を再検討することとした。その結果、既知産地を含め複数の地点から本菌を確認することができたので報告する。

## 材料と方法

寄主のフナムシ類は、神奈川県内の5地点、三浦市南下浦町(江奈湾・毘沙門湾)、横浜市金沢区(海の公園)、平塚市須賀(相模川河口)、足柄下郡真鶴町で採集した。これらの位置と環境を図1と表1に示した。県内の干潟は三浦半島と多摩川河口にのみ残されている。江奈湾は背後にアシ原があり川が流れこむ入り江となる泥干潟である(池田, 2002)。毘沙門湾は江奈湾に隣接する湾だが、海岸線は岩礁で背後は林になっている。横浜市金沢区では、過去に金沢八景からの採集の記録がある(Lichtwardt *et al.* 1987)が、現在、平潟湾の金沢八景駅周辺はコンクリートで護岸されており、フナムシ類を確認できなかったため、金沢地先埋立事業の一環として整備され1988



図1. 調査地点. 国土地理院地図を加工編集.



図 2. フナムシ (三浦市毘沙門湾産) . スケール 10 mm.

年に開園した海の公園で採集を行った。ただし、海の公園の磯場は岩場までスロープや階段が整備され、岩は固められ動かすことができず採集が困難であった。相模川河口には過去に干潟があったが、現在は消滅しており、砂州を守るために設置されたと思われる波消しブロック (消波根固ブロック平型) 周辺で採集を行った。フナムシ類の捕獲は 2019 年 5 月から 7 月にかけて行い、1 地点ごとに 1 回ずつ 20 頭以上のフナムシ類を採集した。相模川河口については 1 回の採集では 20 頭を確保できなかったため 2 回採集を行った。

採集したフナムシ類は持ち帰り、以下の方法で解剖を行った。(1) フナムシ類の動きを鈍くするために、冷却剤にしばらく接触させるか、頭胸部と第 2 胸節の間にピンセットを刺して弱らせる。(2) 肛門から内部にピンセットを刺し腸管を引き出すようにして摘出する。(3) 腸管をしばらく水に浸し、腸管内に詰まっている内容物を除去しやすくする。(4) 腸管を切り開き、内容物を除去し、内壁表面の観察を容易にした上でカバーガラスをかけて光学顕微鏡観察を行う。(5) 腸管の摘出が困難な個体の解剖は、頭部を切り落とすことで頭部と胴体を分離したのち、腸管を摘出する。一部の個体は家庭用冷凍庫 BFC-66 (グラソソ社) において冷凍保存 (-30°C) した。冷凍した個体は冷凍後約 220 日後に約 20°C の部屋に静置して解凍後に解剖に供し、その際、上述の (1) と (3) の作業は省略した。

採集地点ごとに、採集した試料を最大 40 頭まで解剖し菌の検出を行った。フナムシ類の消化管各部の位置関係については李・中村 (1991) を参照した。解剖した消化管はスライドガラス上で水封入により観察し、その後本菌の寄生が認められた場合は水をラクトフェノールに置換しネイルエナメルでシールしプレパラート標本を作成した。これらのプレパラート標本は、神奈川県立生命の星・地球博物館 (KPM) に保管されている (KPM-NC 28447-28463)。

寄主の同定のため、解剖したフナムシ類の一部は 70% エタノールで固定し保管した。寄主は、布村・下村 (2017) に従い同定した。

## 結果と考察

解剖した寄主は全てフナムシ *Ligia exotica* であった (図 2)。出川 (2006) によって *Asellaria ligiae* の生息適地と想定されていた既知の泥干潟産地に限らず、全ての調査地においてフナムシの腸内に菌の付着が認められ、その感染率は 2.5–30% ( $n \geq 20$ ) であった (表 1)。

検出された菌は Lichtwardt *et al.* (2001) に基づき、付着基部細胞の形状が球根状である点 (図 3D, E)、分節胞子の形態および大きさが Lichtwardt *et al.* (2001) による記載と一致する点 (図 3B, C) から、すべて *A. ligiae* と同定された。なお、本種には和名がないため、本論文においてフナムシヤドリの和名を提唱する。本調査で得られた本種の形態的特徴を下記に記す。

### フナムシヤドリ (新称)

***Asellaria ligiae* Tuzet & Manier ex Manier, 1968**

Mycobank ID: MB 292828

(図 3)

菌体はフナムシの腸管内部に付着、全長 1250  $\mu\text{m}$  に達し、主軸からは 3–5 分枝し、各枝はさらに分枝を伴う。基部細胞は、球根状で 37.5–51.2  $\times$  25.0–37.5  $\mu\text{m}$  (平均: 45.2  $\times$  32.5  $\mu\text{m}$ ) で、腸壁への付着部分が陥入する。分枝の先端部から求基的に円筒形に分節胞子が形成され、その大きさは 56.2–60.0  $\times$  15.0–16.2  $\mu\text{m}$  (平均: 57.9  $\times$  15.4  $\mu\text{m}$ ;  $n = 3$ )。接合胞子は観察されなかった。

観察標本：神奈川県三浦市南下浦町江奈湾, 2019 年 5 月 18 日, 高木 望採集, 標本番号 KPM-NC 28447–28450; 三浦市南下浦町毘沙門湾, 2019 年 5 月 18 日, 渡辺 舞採集, 標本番号 KPM-NC 28451; 三浦市南下浦町江奈湾, 2019 年 5 月 18 日, 渡辺 舞採集, 標本番号 KPM-NC 28452; 平塚市須賀相模川河口, 2019 年 6 月 20 日, 高木 望採集, 標本番号 KPM-NC 28453; 横浜市金沢区海の公園, 2019 年 5 月 31 日, 渡辺 舞採集, 標本番号 KPM-NC 28454–28460; 足柄下郡真鶴町真鶴半島, 2019 年 7 月 24 日, 渡辺 舞採集, 標本番号 KPM-NC

表 1. *Asellaria ligiae* 検出状況

調査地	環境	採集日	住所	緯度	経度	菌検出 個体数	解剖 個体数	感染率
江奈湾	泥干潟	2019.5.18	三浦市南下浦町	35.08.37.1	139.39.44.0	5	40	12.5 %
毘沙門湾	岩礁	2019.5.18	三浦市南下浦町	35.08.26.0	139.39.07.3	1	40	2.5 %
海の公園	公園内磯場	2019.5.31	横浜市金沢区	35.20.25.5	139.38.23.2	6	20	30.0 %
相模川河口	波消しブロック	2019.6.20	平塚市須賀	35.18.56.0	139.22.24.0	1	17	5.9 %
相模川河口	波消しブロック	2019.7.3	平塚市須賀	35.18.56.0	139.22.24.0	0	8	0 %
真鶴半島	岩礁	2019.7.24	足柄下郡真鶴町	35.08.30.2	139.09.27.0	3	20	15.0 %

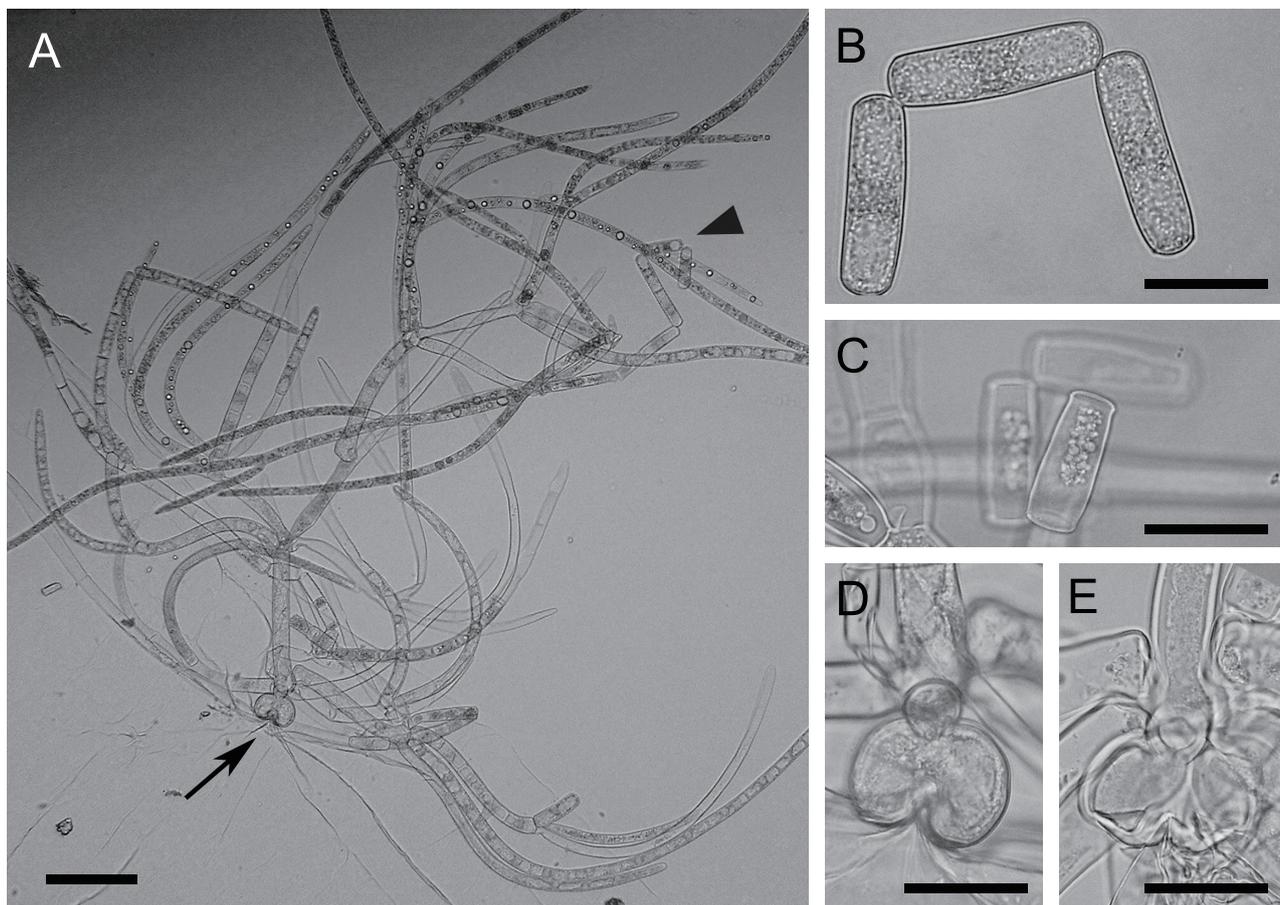


図 3. *Asellaria ligiae* (フナムシヤドリ) の顕微鏡写真. A: 成熟個体 (KPM-NC 28452, 全体) の分節胞子 (矢印) と基部細胞 (矢印), 水封入, スケールは 100  $\mu$ m; B: 採集直後の分節胞子 (KPM-NC 28452), 水封入, スケールは 30  $\mu$ m; C: 解凍後の分節胞子 (KPM-NC 28463), ラクトフェノール封入, スケールは 30  $\mu$ m; D: 採集直後の眼球状基部細胞 (KPM-NC 28452), 水封入, スケールは 30  $\mu$ m; E: 解凍後の眼球状基部細胞 (KPM-NC 28463), ラクトフェノール封入, スケールは 30  $\mu$ m.

28461–28463.

2006 年版の神奈川県レッドデータ生物調査 (出川, 2006) では, 泥干潟やその近くに生息するフナムシに本種の生息が認められる傾向があり, 生活史を全うする為に特定の微小生息地が必要なのではないかと推定している。詳細については今後の調査が必要であると述べつつも, 本種の生息には泥干潟が適すと考えられると記述されていた。しかし本研究で追加調査がなされた結果, 本菌の感染は泥干潟に限らず各種の環境に生息するフナムシにおいても一定数認められた。また, Lichtwardt *et al.* (1987) でも *A. ligiae* の寄生を確認したフナムシの生息場所として特に泥干潟が明示されているわけではない。したがって, 本種の生息状況を決める要因として泥干潟以外の環境要因を考慮する必要があると考えられた。

本菌の感染率が高いフナムシの生息環境を明らかにするためには, 方法を統一した多点調査が必要である。今回, 5 か所の調査地で, 最も寄生率が低かった毘沙門湾では, 本菌の検出に寄種 40 頭の解剖を要した (表 1)。このことから, *A. ligiae* の生息状況評価のためには, 一か所当たり少なくとも 40 頭のフナムシを調査する必要があり, 慎重を期すならば 50 頭程度に増やしてもよいと考えられる。Lichtwardt *et al.* (1987) では, 個体群によって感染率が低いこともしくは感染が無いことが報告されているが具体的な調査頭数は記述されておらず, 出川 (2006) においても調査頭数の記述はない。本調査による上述の数値は, 今後 *A. ligiae* 感染状況の評価を行うための調査寄主個体数として, 一つの基準を示したものと考えられる。

節足動物の腸内生菌調査では、寄主の解剖に時間を要する。したがって、多くの頭数を調査するためには、本菌を検出できる良好な状態での試料の長期保存が必要になる。節足動物の腸内生菌調査に際し、寄主を冷凍して長期保存を行い、解凍の後に解剖して観察した例がある。佐藤（2013）は、採集直後と長期冷凍後に解凍したアオキツメトゲブユ *Simulium aokii* Takahashi を解剖してアセラリア目に近縁の腸内生菌 *Simuliomyces microsporus* Lichtwardt（ハルペラ目 Harpellales）の検出を試み、長期冷凍後の場合も同定に重要な形態的特徴は十分に観察できることを示した。今回、冷凍保存した寄主試料 20 頭を約 220 日後に解凍してフナムシヤドリを検出を試みたところ、同定の際に重要な形質である腸壁に付着する球根状の基部細胞を伴う菌体が 3 頭より検出でき（図 3E）、そのうちの 1 頭由来の菌体では円筒形の分節胞子の形成も確認できた（図 3C）。このことから、寄主の冷凍保存はフナムシヤドリ検出のために有効な手段と考えられた。

肉眼で直接検知できない微生物を多く含む真菌類の絶滅危惧の判定や保全は、大型動植物のそれと比較してきわめて困難である。そこで 2006 年の神奈川県レッドデータブック（RDB）では、寄生、共生、生息環境など生態的特徴に着目することにより微小菌類も対象に含めた編纂が試みられた。本種については横浜市の記録地が海岸開発により著しく変化していること、その生息に適すと考えられる泥干潟が減少していることから、絶滅危惧 II 類と判定されたが、今後の詳細な調査の必要性も指摘されていた（出川，2006）。本研究において、RDB 改訂のための基礎調査の一環として様々な環境に生息するフナムシを定量的に再調査することができた。その結果、本種は泥干潟以外の環境に生息するフナムシにも寄生することが認められたことから、本種を絶滅危惧種と判断することは妥当ではないとの結論に至った。これは、具体的なデータに基づき微小菌類の保全を判断する調査の前例となるものである。今後、調査地点をさらに増やし、定量的な調査を実施することにより、本種の詳細な生態的特性について検討することができるようになると思われる。

## 謝 辞

フナムシの採集にご協力いただいた、石原 峻氏、柴田めいこ氏、杉本 泉氏、須藤貴志氏、南 常俊氏、李 知彦氏に深謝する。また本調査は、神奈川県レッドリスト選定・評価委員会植物・菌類部会による菌類のレッドリスト改訂

作業のための基礎資料収集の一環として執り行われたが、その遂行をサポートして下さった神奈川県環境農政局緑政部自然環境保全課緑地グループの須藤貴志氏（前担当者）、古川 拓氏の両氏には大変ご尽力を頂いた。記して感謝申し上げる。

## 引用文献

- 出川洋介, 2006. 菌類・高桑正敏・勝山輝男・木場英久 編, 神奈川県レッドデータ生物調査報告書 2006, pp. 147–166. 神奈川県立生命の星・地球博物館, 小田原.
- 出川洋介, 2008. 解体された接合菌類. 国立科学博物館 編, 菌類のふしぎ, pp. 100–103. 東海大学出版会, 秦野.
- 池田 等, 2002. 潮騒ガイドブック⑥三浦半島: 干潟・砂浜の生物. 32 pp. 葉山しおさい博物館, 葉山.
- 李 光友・中村 薫, 1991. フナムシ *Ligia exotica* Roux のリンパ様器官に関する形態学的研究. 鹿児島大学水産学部紀要, **40**: 29–34.
- Lichtwardt, R. W., M. J. Cafaro & M. M. White, 2001. The Trichomycetes, fungal associates of arthropods, revised edition. <https://keyserver.lucidcentral.org/key-server/data/0b08020c-0f0c-4908-8807-030c020a0002/media/Html/monograph/text/mono.htm> (accessed on 2020-September-17).
- Lichtwardt, R. W., Y. Kobayasi & H. Indoh, 1987. Trichomycetes of Japan. *Transactions of Mycological Society of Japan*, **28**: 359–412.
- 布村 昇・下村通誉, 2017. 日本産等脚目甲殻類の分類 (47), ワラジムシ亜目フナムシ科 1, フナムシ属 1. 海洋と生物, **39**(5): 506–511.
- 佐藤大樹, 2013. ブユ幼虫の腸内寄生菌 *Simuliomyces microsporus* (ハルペラ目) の日本初記録とその解剖用昆虫試料の冷凍保存法の検討. 日本菌学会会報, **54**: 54–59.
- Spatafora, J. W., Y. Chang, G. L. Benny, K. Lazarus, M. E. Smith, M. L. Berbee, G. Bonito, N. Corradi, I. Grigoriev, A. Gryganskyi, T. Y. James, K. O'Donnell, R. W. Roberson, T. N. Taylor, J. Uehling, R. Vilgalys, M. M. White and J. E. Stajich, 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, **108**: 1028–1046.
- Valle, L. G. & M. J. Cafaro, 2008. First report of zygosporangia in Asellariales and new species from the Caribbean. *Mycologia*, **100**: 122–131.

陶山 舞：神奈川県立生命の星・地球博物館外来研究員；高木 望：神奈川県立生命の星・地球博物館菌類ボランティア；出川洋介：筑波大学山岳科学センター菅平高原実験所；佐藤大樹：(国研) 森林研究・整備機構 森林総合研究所；折原貴道：神奈川県立生命の星・地球博物館

(受領 2020 年 10 月 30 日；受理 2021 年 1 月 23 日)