

多摩川上流域の肉食菌類の分布調査

—日本で再発見されたワムシ捕食性水生菌

Zoophagus tentaculum の光学、および電子顕微鏡的研究—

1 9 9 7 年

犀 川 政 稔

東京学芸大学教育学部助教授

日本で再発見されたワムシ捕食性水生菌

Zoophagus tentaculum の光学、

および電子顕微鏡的研究

犀 川 政 稔

東京学芸大学生物学科

〒184-8501

東京都小金井市貫井北町4-1-1

目 次

要 約	1
緒 言	1
材料と方法	2
結 果	2
考 察	4
引用文献	6

要 約

Zoophagus tentaculum Karling が東京都檜原村三頭沢の溪流で採取した水中の落葉から分離された。これは Karling による発見以来はじめての報告である。菌の捕食器官は短い側枝で、その先端にいくつかの細い触手のような菌糸をつけていた。また、各触手の先端はノブとなっていた。

ワムシへの感染はワムシが捕食器官全体を飲み込もうとしたときに開始した。これを電顕で見ると、触手の一本が咀嚼器のツメでつままれており、この触手から分泌した粘液が咀嚼器中に確認された。捕捉後、ワムシに侵入するための菌糸が、つままれた触手からではなく、その基部の側枝先端から発生した。この侵入前菌糸(accessory infective branch)は、同じ属の他の2種である *Z. insidians* と *Z. pectosporus* では報告されていない。本研究では、この菌がワムシ以外に有殻アメーバをも捕えることをも確かめた。

Key Words : 超高圧電子顕微鏡、微細構造、接合菌

緒 言

Karling は1936年ワムシ捕食菌の一種 *Zoophagus tentaculum* Karling をニュージャージー州 Arcola の小さな溪流から分離した。これが *Zoophagus* 属の二番目の種であった。捕食器官は短い側枝で、側枝にはいくつかの触手のような細い菌糸がついていた。この最初の記載以来、この菌は今まで報告されたことがない。Karling (1936) は100匹以上の *Monostyla* 属のワムシを観察したが、*Z. insidians* Sommerstorff や、*Z. pectosporus*(Drechsler) Dick とは違い、*Z. tentaculum*が捕食器官から粘着物質を分泌することはなかった。本研究の目的は *Z. insidians* によるワムシ捕食のしくみ、とくにワムシの咀嚼器中に分泌された粘着物質を示すことである。

材 料 と 方 法

Zoophagus tentaculum は、ひとつまみの水中の落ち葉をのせて2週間室温にインキュベートした素寒天平板に現れた。落ち葉は1995年6月11日、東京都檜原村三頭沢の溪流で採取したものであった。菌は素寒天の上に寒天と、等量の水を入れて培養した。水中にはウサギワムシ *Lepadella oblonga* (Ehrenb.) などの微小動物が含まれていた。ワムシは定期的にタマネギの皮を与える Karling (1952) の方法で増殖させた。

電顕試料は次のようにつくった。まず材料を3%グルタルアルデヒド(0.1Mリン酸緩衝液でpH7.2に調整)で1.5時間室温で固定し、同緩衝液で1.5時間水洗後、オスミック酸(同緩衝液)で12時間後固定した。材料はアセトンシリーズで脱水し、エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片は酢酸ウランとクエン酸鉛で染色し、日本電子製100CXII電子顕微鏡で観察した。加速電圧は80kVを用いた。3~5 μm の準超薄切片は日立製H-1250M超高压電子顕微鏡を1000kVの加速電圧で観察した。

結 果

Zoophagus tentaculum の捕食器官は、長さ8-15 μm 、幅1.6-1.9 μm の短い側枝で、その先端にはいくつかの触手のような細い菌糸がついていた。触手は長さ8-16 μm 、幅0.5-0.6 μm で(Figs. 1, 2)、それぞれの先端はノブ(太さ0.8-0.9 μm)となっていた(Figs. 2, 8)。触手はまた、無数の長さ1-2 μm 、太さ20nmの繊細なフィラメントをつけていた(Fig. 3)。菌を *Lepadella oblonga* とともにシャーレに入れると、このワムシはつぎつぎと捕食枝に捕らえられた(Fig. 1)。しかし、菌の捕食様式はいまひとつはっきりしない。というのは捕食器官から分泌されたはずの粘着物質が器官のまわりや、捕らえられたワムシの口のまわりで確認されないからである。*Zoophagus* 属の他種では、粘着物質がときどきワムシに逃げられた側枝の先端の部分に見られるものである。

ワムシ捕食 2 時間後の厚さ $5\mu\text{m}$ の切片の光顕像を見ると、菌の侵入前に、側枝の先端部 (Fig. 4, 矢印) が侵入前菌糸 (accessory infective branch) をワムシの口の中に伸ばしているのが観察された (Fig. 4)。Fig. 4では、いくつかの触手のひとつがワムシの咀嚼器の方向にのびており、それに対して他の 2 本の触手は反対方向にのびているのがよくわかる。Fig. 4と同じ切片であるが、ピントを変えると侵入前菌糸がはっきりと認められた (Fig. 5)。厚さ $3\mu\text{m}$ の切片の超高压電顕像でも触手と侵入前菌糸とが同様の状況を示した (Fig. 6)。そこでは、触手の一本の先端部が咀嚼器の入口を通過して飲み込まれていたのである (Fig. 6, 二重鎌印)。

超薄切片像を見ると、短枝の原形質は無数の、直径 $0.4\text{--}0.7\mu\text{m}$ の高電子密度のベシクルによって占拠されていた (Fig. 7)。しかし、触手の中にはこのようなベシクルはなかった (Figs. 7, 8)。また、触手先端のノブの細胞壁は他のどの部分の細胞壁よりも電子密度が低かった (Fig. 8)。

ワムシへの感染は、触手の先端部が咀嚼器の一对の爪によってつままれることによって開始した (Fig. 9)。粘着物質は咀嚼器内のみを確認された。それは細かい粒子と泡でできており、無定形で、中くらいの電子密度をもっていた (Figs. 9, 12)、Fig. 9には側枝の先端部も見える。感染開始後 2 時間たつと、側枝の先端部はワムシに侵入するための分枝 (accessory infective branch) を発生させた (Fig. 10)。

捕捉後 24 時間以内にワムシのからだは感染菌糸でいっぱいになった (Figs. 11, 12)。感染菌糸とワムシは感染後数日で完全に空になった。長期間培養すると長紡錘形の分生子が主菌糸の先端部分からつぎつぎとつくられた (Figs. 13, 15)。そこでは分生子の痕跡が栄養菌糸上に見られた (Fig. 14)。分生子の微細構造は本質的に栄養菌糸の構造と同じだった (Fig. 15)。

本研究では、*Z. tentaculum* はワムシのほかには有殻アメーバの一種をも捕らえた (Figs. 17–19)。たくさんの泡を含んだ粘着物質は短枝の末端のところに見られた (Fig. 18)。感染末期には側枝のも主菌糸も原形質が抜けていた (Fig. 19)。

考 察

Zoophagus tentaculum によるワムシへの感染は触手様の菌糸の先端部がワムシ咀嚼器の一对の爪(unci)によってつままるとスタートする。この捕食性の触手は栄養菌糸である主菌糸についた側枝の先端から発生する。Karling (1936) は、彼が観察した100以上のワムシを捕らえた捕食器官の回りで発見できなかったが、それは粘着物質が咀嚼器の中のみ分泌されるからである。このことは今回超薄切片像で確認された。明らかに、その粘着物質は側枝から触手を通して分泌されたのである。なぜなら、側枝には直径0.4-0.7 μ mの高電子密度のベシクルで満たされているからである。この高電子密度ベシクルの詰まった側枝の超薄切片像は、Whisler and Travland (1974)、Saikawa and Morikawa (1985)と Saikawa and Hoshino (1986) が観察した *Z. insidians*、*Z. pectosporus*、それに *Sommerstorffia spinosa* Arnaudow のそれぞれの像とよく似ていた。さらに、ワムシに侵入するための侵入前菌糸 (accessory infective branch) が、爪につままれた触手からではなく、側枝から発生したのはユニークであった。この属の他の二種である *Z. insidians* と *Z. pectosporus* ではこのような菌糸を生じることはなく、側枝が直接感染菌糸を生じてワムシ体内に侵入する (Sommerstorff, 1911; Drechsler, 1962)。センチウとワムシを捕らえる *Zoophagus pectosporus* では付着器のような構造 (appressorium-like structure) がセンチウへの侵入直前に側枝先端に発生するが (Drechsler, 1962 ; Morikawa and Saikawa, 1985)、*Z. tentaculum* の侵入前菌糸はその付着器と相同であるように思われる。

Karling (1936) は *Z. tentaculum* の側枝の末端から発生した外生菌糸 (external hypha) を観察した。外生菌糸は、ワムシ *Monostyla* sp. が触手の先端のところで捕らえられたときのみ観察され、ワムシが、側枝と触手からなる捕食器官全体のみこんだときには現れなかった。Karlingの観察した外生菌糸は本研究におけるワムシに侵入するための侵入前菌糸と相同である。本研究では外生菌糸は見つからなかったが、それは、ここで用いたワムシの *Lepadella oblonga* が Karling の *Monostyla* sp. より大きいためと思われる。

今回、*Z. tentaculum* の触手の細胞壁には無数の、長さ1-2 μ m、幅20nmのフィブリルがついていることがわかった。それはワムシ捕食に関与しているものと思われるが、くわしい働きは不明である。

本研究では、*Z. tentaculum* がワムシ以外に有殻アメーバを捕らえることがわかった。Karling(1936)も述べているが、この菌はもともと *Distyla* 属と *Monostyla* 属のワムシを捕らえることが知られていた。*Zoophagus insidians* と *Z. pectosporus* もそれぞれイタチムシ(Sommerstorff, 1911)とセンチュウ(Saikawa, et al., 1988)を捕らえることがわかっている。また、*Cephaliphora longispora* Barron, Morikawa & Saikawaと *C. muscicola* Barron, Morikawa & Saikawaもワムシのほかにクマムシを捕らえることがわかっている(Barron, et al., 1990)。この菌は、最近までしばしば *Z. insidians* と間違われてきた(Cooke, 1963; Pipes and Jenkins, 1965)不完全菌である。これらのことから水中のワムシ捕食菌類は *Arthrobotrys* 属や *Dactylella* 属のような陸生のセンチュウ捕食種よりもいろいろな種類の微小動物を捕らえる能力をもっているものと思われる。

謝 辞

この研究は、研究助成金を支給してくださった東京都渋谷区渋谷地下鉄ビルとうきゅう環境浄化財団と、超高圧電顕の操作を助けていただいた愛知県岡崎市生理学研究所有井達夫博士のおかげでまとめることができました。どうもありがとうございました。

引用文献

- Barron, G. L., C. Morikawa, and M. Saikawa. 1990. New *Cephalophora* species capturing rotifers and tardigrades. *Canad. J. Bot.* 68: 685–690.
- Cooke, W. B. 1963. *A laboratory guide to fungi in polluted waters, sewage treatment systems. Their identification and culture.* Publ. No. 999-WP-1, U. S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Cincinnati, Ohio. 132 pp.
- Drechsler, C. 1962. A nematode – capturing phycomycete with distally adhesive branches and proximally imbedded fusiform conidia. *Amer. J. Bot.* 49: 1089–1095.
- Karling, J. S. 1936. A new predacious fungus. *Mycologia* 28: 307–320.
- Karling, J. S. 1952. *Sommerstorffia spinosa* Arnaudow. *Mycologia* 44: 387–412.
- Pipes, W.O., and D.Jenkins. 1965. *Zoophagus* in activated sludge—a second observation. *Int. J. Air Wat. Poll.* 9: 495–500.
- Saikawa, M., and J. Hoshino. 1986. Electron microscopy on *Sommerstorffia spinosa*, a water mold parasitic on rotifers. *Mycologia* 78: 309–312.
- Saikawa, M., and C. Morikawa. 1985. Electron microscopy on a nematode-trapping fungus, *Acaulopage pectospora*. *Canad. J. Bot.* 63: 1386–1390.
- Saikawa, M., K. Yamaguchi, and C. Morikawa. 1988. Capture of rotifers by *Acaulopage pectospora*, and further evidence of its similarity to *Zoophagus insidians*. *Mycologia* 80: 880–884.
- Sommerstorff, H. 1911. Ein Tiere fangender Pilz. (*Zoophagus insidians*, nov. gen., nov. spec.) *Österreichische Botanische Zeitschrift* 61: 361–373.
- Whisler, H. C., and L. B. Travland. 1974. The rotifer trap of *Zoophagus*. *Arch. Microbiol.* 101: 95–107.

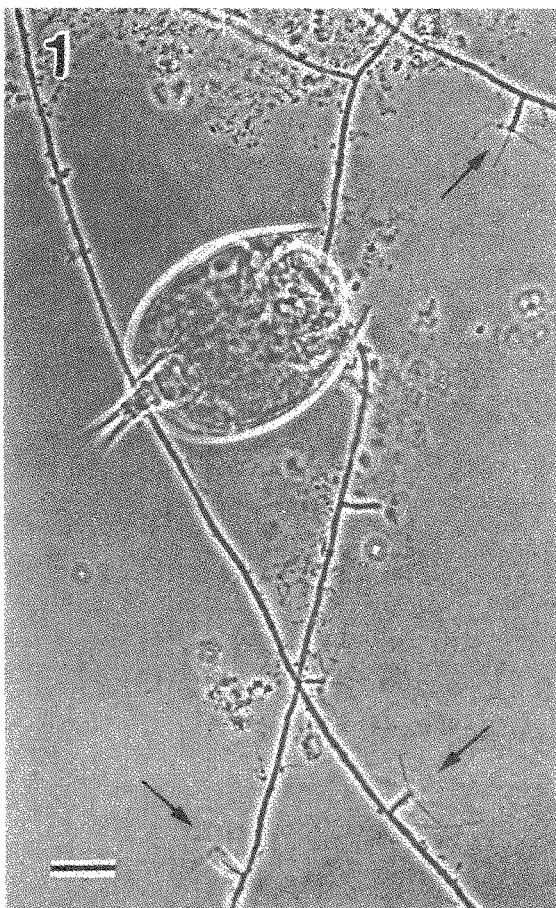


Fig. 1. *Zoophagus tentaculum*.

Light micrograph.

Scale bar = 20 μm

A trapping organ capturing a rotifer, *Lepadella oblonga*. The trapping organ (arrows) is composed of a short lateral branch and several tentacle shaped, narrow hyphae developed from the apex of the lateral branch.

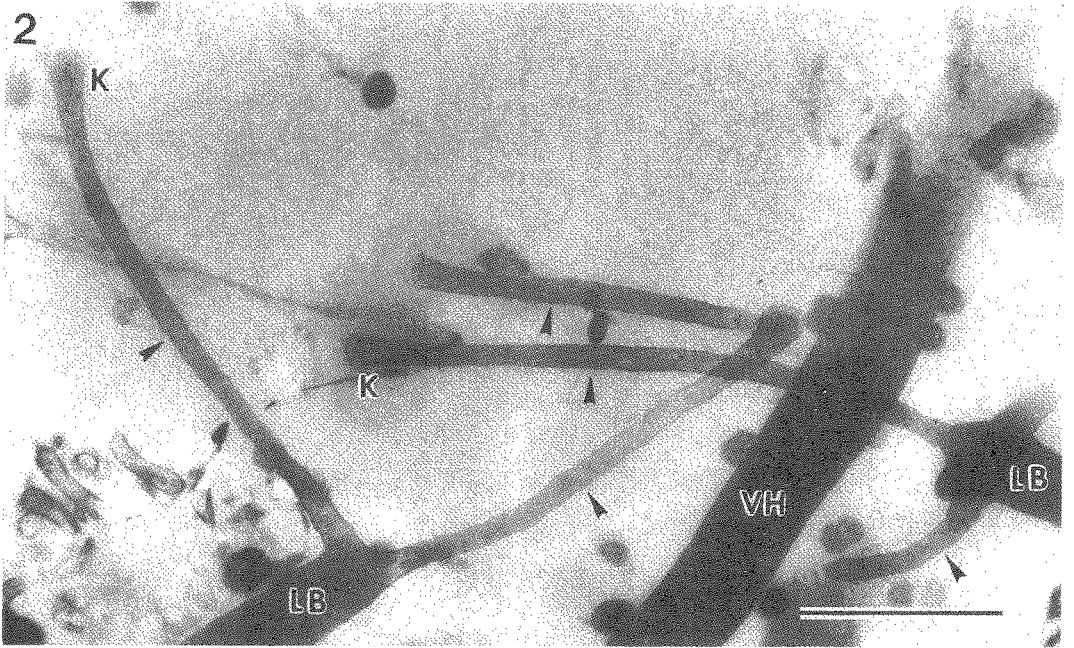


Fig. 2. *Zoophagus tentaculum*.

High voltage electron micrograph.

Scale bar = 5 μm

Vegetative hyphae (VH) and two trapping organs in a thick (ca. 3 μm) section. A trapping organ is composed of a short lateral branch (LB) and narrow, tentacle-shaped hyphae (arrowheads), each terminated by a knob (K).



Fig. 3. *Zoophagus tentaculum*.

High voltage electron micrograph.

Scale bar = 1 μ m

A portion of a predacious tentacle, bearing a number of fine filaments (arrows).

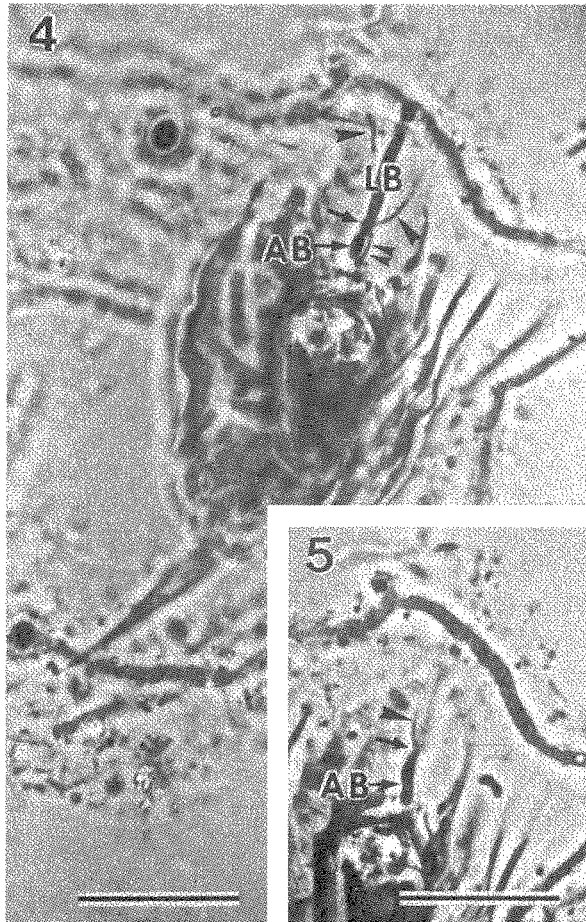


Fig. 4, 5. *Zoophagus tentaculum*.

Light micrographs.

Scale bar = 20 μm

4. Approximately a 5 μm -thick section of a lateral branch (LB) about two h after capturing a rotifer. The arrow points to the distal portion of the lateral branch. One of the three tentacles (double arrowhead) seen in this section points to the trophi of the rotifer, while the other two (arrowheads) point in the opposite direction. AB, accessory infective branch.
5. The same captured rotifer as in Fig. 4, but in a different optical section. An accessory infective branch (AB) is clearly seen. Arrow and arrowhead show the distal portion of the lateral branch and a predacious tentacle, respectively.

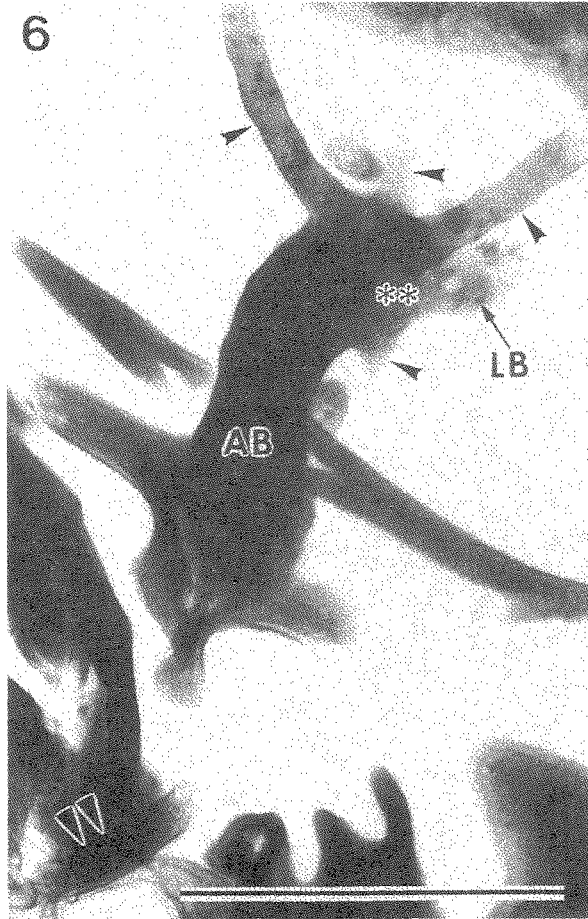
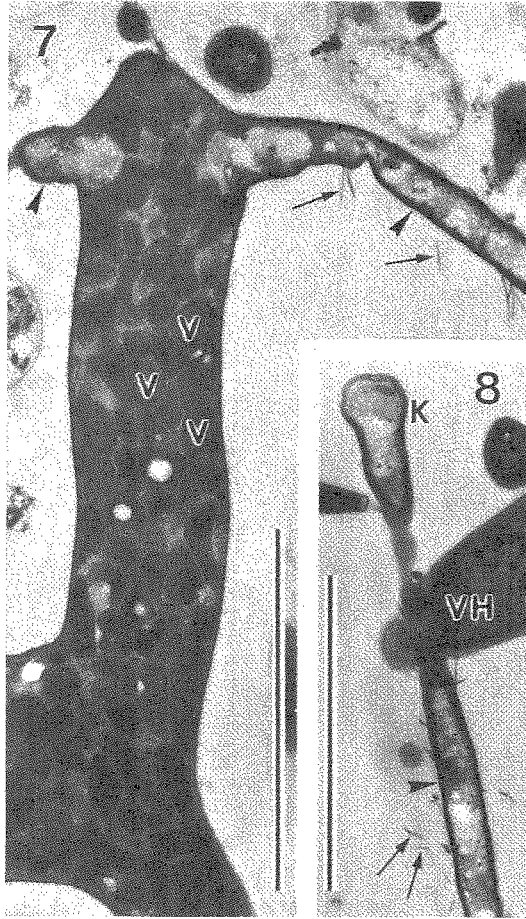


Fig. 6. *Zoophagus tentaculum*.

High voltage electron micrograph.

Scale bar = 5 μ m

Accessory infective branch (AB) developed from the distal portion (**)
of a lateral branch (LB), where the basal portion of four predacious tentacles (arrowheads) is seen. The apical portion of one of the tentacles is inserted through the entrance of the rotifer's trophi (double arrowhead).



Figs. 7, 8. *Zoophagus tentaculum*.

Electron micrographs.

Scale bar = 5 μ m

7. A lateral branch with two predacious tentacles (arrowheads). The protoplasm of the lateral branch has electron-dense vesicles (V), while that of the predacious tentacles is scanty in contents. Arrows show fine filaments of the predacious tentacle.

8. Apical portion of a predacious tentacle (arrowhead), terminated by a knob (K). VH, vegetative hypha.



Fig. 9. *Zoophagus tentaculum*.

Electron micrograph.

Scale bar = 5 μ m

Initiation of rotifer infection by a predacious tentacle (arrowhead). The apical portion of the tentacle, exhibiting high in electron density, is pinched by a pair of unci (*) of the rotifer's trophi. An adhesive (Ad) is seen in the trophi. Note the apical portion of the lateral branch (**).

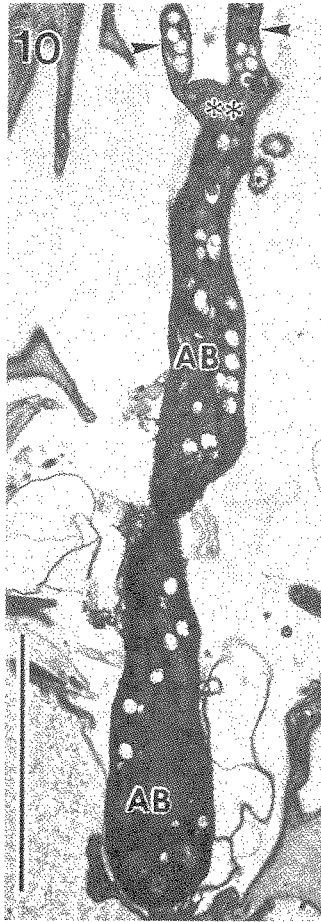


Fig. 10. *Zoophagus tentaculum*.

Electron micrograph.

Scale bar = 5 μ m

Accessory infective branch (AB) about two h after infection, developed from the apical portion (**) of the lateral branch, not shown in this section. Arrowheads show the basal portion of the predacious tentacle.

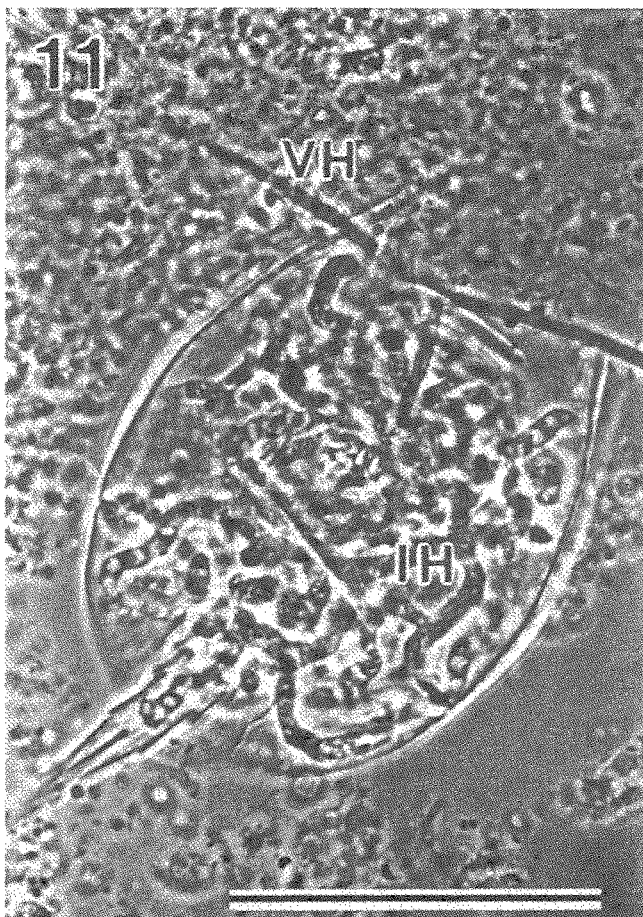


Fig. 11. *Zoophagus tentaculum*.

Light micrograph.

Scale bar = 50 μm

A mass of infection hyphae (IH) in the rotifer. Note the vegetative hypha (VH) outside the rotifer.



Fig. 12. *Zoophagus tentaculum*.

Electron micrograph.

Scale bar = 5 μ m

A dead rotifer 24 h after initiation of infection by the fungus. The lateral branch (LB) and an adhesive (Ad) exuded from one of the predacious tentacles (arrowheads) are seen. Note the infection hyphae (IH), knob of a predacious tentacle (K), uncus of trophi (*) and apical portion of the lateral branch (**).

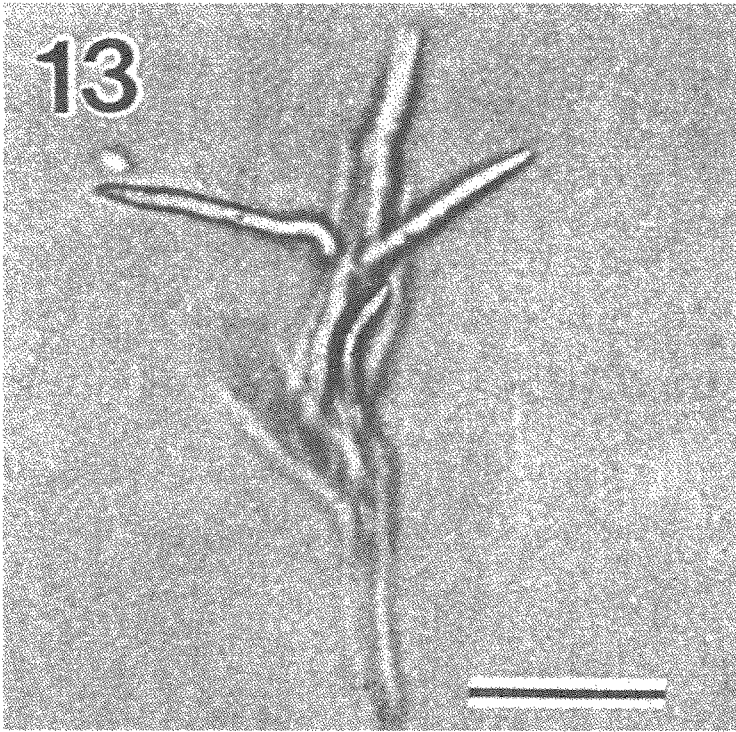


Fig. 13. *Zoophagus tentaculum*.

Light micrograph.

Scale bar = 50 μm

Conidia formed in acropetal succession at the terminal portion of the main hypha.

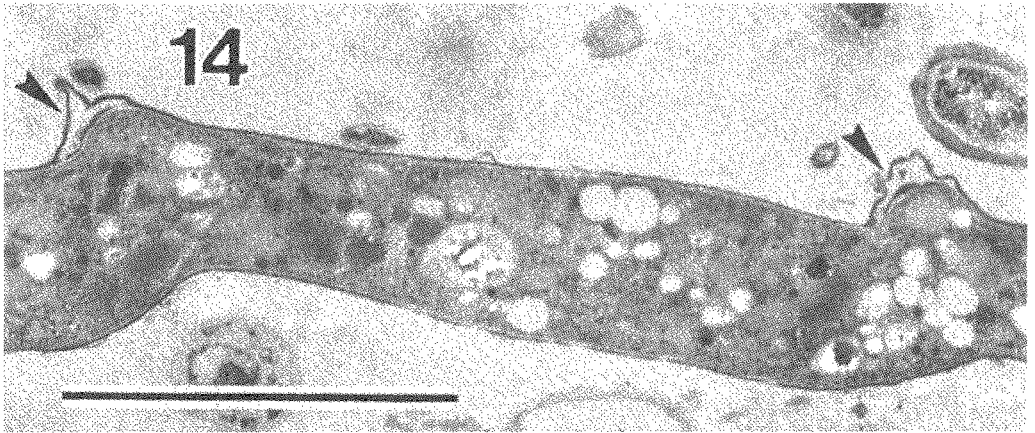


Fig. 14. *Zoophagus tentaculum*.

Electron micrograph.

Scale bar = 5 μm

Vegetative hypha, after the liberation of conidia. Arrowheads show the scars after conidial liberation.

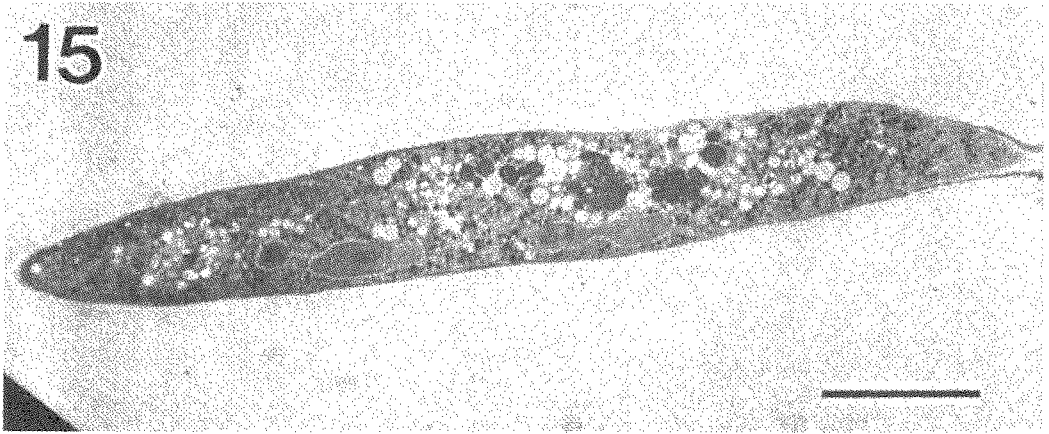


Fig. 15. *Zoophagus tentaculum*.

Electron micrograph.

Scale bar = 5 μm

A conidium still attached on the vegetative hypha.

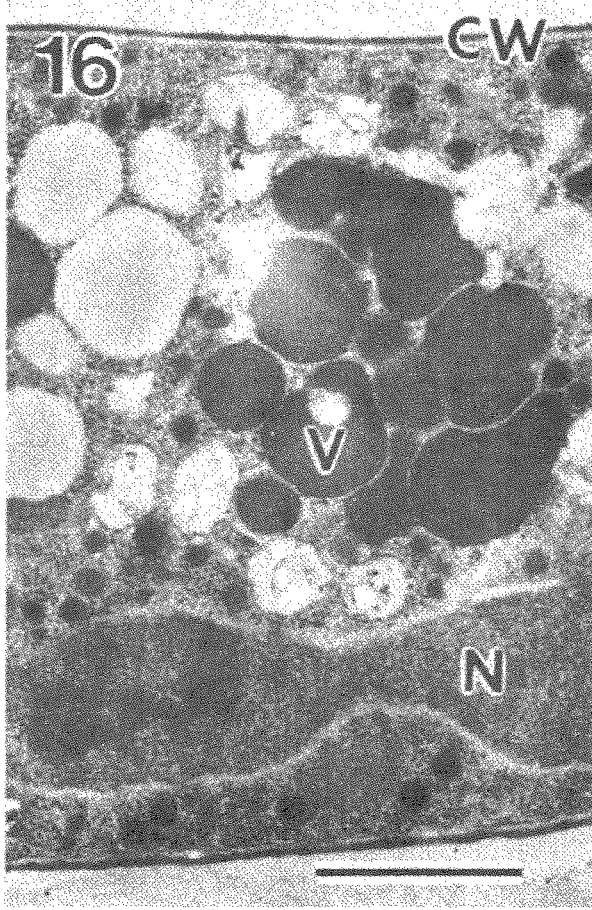


Fig. 16. *Zoophagus tentaculum*.

Electron micrograph.

Scale bar = 1 μ m

Enlargement of Fig. 15. The cell wall (CW), nucleus (N), and a number of electron-dense vesicles (V) are seen.



Fig. 17. *Zoophagus tentaculum* capturing a testaceous rhizopod.

Electron micrograph.

Scale bar = 5 μ m

Infection of a testaceous rhizopod by the fungus. An apical portion of the lateral branch (LB) begins to penetrate the rhizopod.

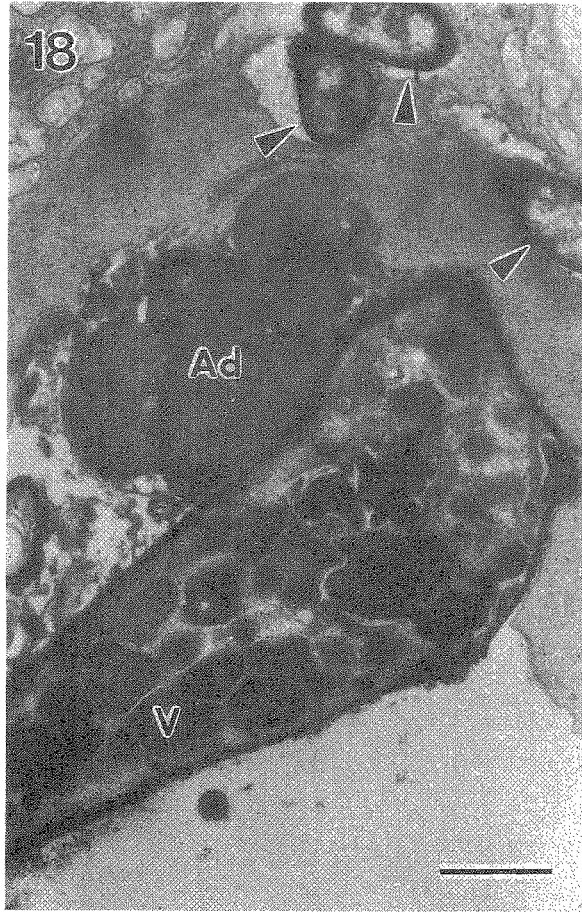


Fig. 18. *Zoophagus tentaculum* capturing a testaceous rhizopod.

Electron micrograph.

Scale bar = 1 μ m

Enlarged view of Fig. 17. The adhesive (Ad) contains bubbles. Arrowheads show three predacious tentacles in the thin section.



Fig. 19. *Zoophagus tentaculum* capturing a testaceous rhizopod.

Electron micrograph.

Scale bar = 5 μ m

A portion of a testaceous rhizopod at a later stage of fungal infection. The hypha (IH), as well as the rhizopod, is almost devoid of protoplasm.

「た まがわ じょうりゅういき 多摩川上流域の肉食菌類にくしよくまんるいの分布調査ぶんぷ ぶつちうさ」

— にっぽん 日本で再発見されたワムシ捕食性水生菌さいはっけん ほしよくせいせいせいきん Zoophagus tentaculum の光学、こうかく

— でんしけんびきわてきけんきう および電子顕微鏡的研究 —

(研究助成・A類 No. 189)

著者 さい かわ まさ ひと 犀川政穂

発行日 1998年3月31日

発行 財団法人 とうきゅう環境浄化財団
〒150-0002 渋谷区渋谷1-16-14
(渋谷地下鉄ビル内)

TEL (03)3400-9142

FAX (03)3400-9141
