

鈴木のツルグレン装置の改良と地表部における恙虫類幼虫の分布状況

内川公人*, 服部 功*, 小林浩一*, 広沢毅一**

A Device to Prevent Sand Drop from Suzuki's Tullgren Funnel
and Distribution of Tsutsugamushi in Litter and Soil

Kimito UCHIKAWA*, Isao HATTORI*, Kouichi KOBAYASHI* and Kiichi HIROSAWA**

ABSTRACT: Two-factor experiment was carried out twice to examine for effects of paper sieves to prevent sand drop (Factor A) on tsutsugamushi extracting efficiency of Suzuki's Tullgren funnel and to compare population densities of tsutsugamushi in litter and soil of different depths (Factor B). Meshes of the funnel were covered with differently slitted paper sieves that closed 66 and 91 % of meshes, respectively, prior to place samples on them. Litter and soils from 0-2 and 2-5 cm depths were taken separately as samples from 20 × 20 cm quadrats at Miasa (Experiment 1) and Iida (Experiment 2) in the late autumn, when tsutsugamushi is abundant seasonally. Even the sieve that closed 91 % of meshes seemed to have no undesirable effects on extraction of tsutsugamushi, and it prevented sand drop satisfactory. This suggests a way of improving the funnel. Distribution pattern of tsutsugamushi in litter and soil varied according to the localities of sampling. Population density was the highest in soil from 0-2 cm depth and decreased significantly in soil from 2-5 cm depth and litter in this order at Miasa, while it was almost even in the three layers at Iida.

はじめに

これまでの恙虫類に関する調査では、自然宿主である野鼠に寄生する種類を量的にとらえることに重点をおいてきた。野鼠が歩哨動物となって効率的に恙虫の発生動態に関わる情報をもたらすと考え(内川ら, 1983), 従来から広く用いられている調査法であるために、得られる結果を先人の報告と比較することができると期待もしたからである。しかし、この調査法には作業効率や恙虫類の生態特性に規制される問題点があり、得られる知見も既存の同様な調査の成績と安易に対比して検討することは難しいことが徐々に明らかになってきた。そこで、恙虫発生域からさらに別の抽出法によって資料を補うことが必要になり、すでに黒色板法 black board method やツルグレン装置 Tullgren funnel による直接採集を試みている(内川ら, 1984a)。そして、異なった環境下に生息するすべての恙虫類を調べてゆくためには、ツルグレン法が自然宿主検査法とともにさらに広く使われなくてはならないと考えるに至った。

ツルグレン法は、土壤動物学の一部の分野で多用される採集法であり、通常 100 ml 程度の土壤を装置にかけることが多い。鈴木(1973)は、生息密度の低い恙虫類を抽出するために、装置を大型化して約 1 kg の土壤の処理を可能にした。28と1.5メッシュの金網を二重にし、その上に試料を載せて上から40W電燈照射によって生息虫体を追い落すものである。鈴木装置はその有用性が認められ、

最近、恙虫類の調査に併用されるようになっており、著者らも同型のもので用いている。この装置には、さらに改良すべき点があるし、試料採取法についても検討を要する課題が残されている。これらの問題との関連から、装置作動中に落下する土粒量を減少させて虫体の回収を容易にする試みと、地表から地中5 cm までの恙虫類幼虫の層別分布状況に関する調査をおこなったので、結果を報告する。

調査方法

恙虫類の幼虫は、よく発達した脚をもち、その移動力は大きい。したがって、ツルグレン装置内でも相当な範囲を動き回り、隙間に出会うとそこから落下するものと思われるので、各所に穴をあけた覆いを金網の上におけば、土粒の落下を抑えながら恙虫の幼虫を抽出するこ

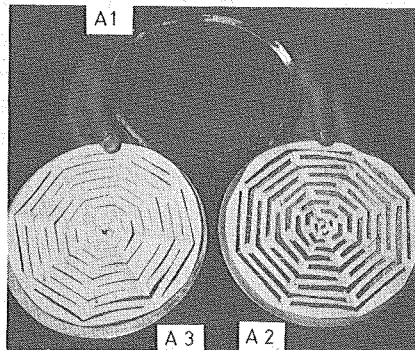


図1. 紙製篩, 網面被覆度: 0 (A1), 66 (A2), 91 (A3) %.

*信州大学医学部 Shinshu Univ. School Med.

**信州大学医療技術短期大学部 School Allied Med. Sci., Shinshu Univ.

とができると考えた。そこで、図1に示すような大(A₂)小(A₃)のスリットを切り抜いた洋紙(大学紙製品協力会)の篩を金網の上において、それを用いない対照(A₁)と抽出効率を比較した。A₂, A₃は、等径の同質紙が2.0941gであったのに対して、1.3887gと1.9025gであり、それぞれ網面の66%と91%を覆ったことになる。

地表から地中にかけての恙虫の層別分布密度が判れば、効率的に試料を得ることができると考えられる。恙虫類は、本来地表に近い部位に多いと予想されるので、地表に集積する litter(B₁)、0~2cm および 2~5cmの深さの土壌を分けて採取し、各層から抽出される幼虫を比較した。

以上のように、紙製篩の有無とスリットのサイズAおよび試料採取部位Bにそれぞれ3水準を設けたが、手持ちの装置が15台であったため、A₂とA₃だけに繰り返しをおき、A₁は1サンプルとした。野外で20×20cmの方形区を細い麻縄で区画し、縄沿いに稲刈用鎌で切り込みを入れてから層別に試料を採取した。方形区の附近には、坑道その他の野鼠の生息痕はなく、出現する恙虫数は非常に少ないものと予想された。そして、この小さな方形区内をさらに3層に分ける今回の抽出単位では、恙虫類の個体数の分布はポアソン分布に近い分布をするものと考えた。

調査は2回おこない、美麻村の前報の調査地A(内川ら、1983)と飯田市の調査地Grass(内川ら、1984b)から、それぞれ1984年11月14日と12月3日に採取した試料を用いた。例年、両地における恙虫類の活動は、この時期に相当活発である。また、篩A₂, A₃が幼虫の落下時間に影響するか否かをみるために、24時間ごとに落下幼虫を回収し、3回連続して0が記録された時点で、落下は終了したものとみなした。この間に落下した土粒をAの水準ごとに集めて、量を比較した。

調査結果

採取した試料の重量と乾重量を表1と2に示した。表1のB₁、すなわち、litter量に最も大きなバラツキがみられた。抽出された恙虫幼虫の個体数と種類を、表3と4に記録した。表3に3属5種、表4に4属5種が示され、一部の種類には未吸着個体と飽食落下個体の両方が含まれている。恙虫の種類と生理条件のちがいを無視して、各区ごとの抽出個体数 x_{ijk} を前述のようにポアソン分布に従う度数として解析した。したがって、 x_{ijk} を正規近似させるための平方根変換 $x_{ijk} + \frac{1}{4}$ (竹内・藤野、1981)をおこなってから分散分析をして、表5と6に示す結果を得た。Aの水準間には、2回の調査の両方で有意差が認められなかったことから、A₂, A₃のような紙製篩をおいても抽出効率に影響しないと考えてよ

表1. 美麻村で採取した試料の重量(乾重量)g

水準	B ₁	B ₂	B ₃
A ₁	50 (19)	460 (233)	570 (283)
	76 (29)	380 (189)	520 (259)
A ₂	96 (33)	368 (169)	500 (268)
	216 (59)	250 (108)	248 (248)
A ₃	100 (27)	420 (169)	480 (238)

表2. 飯田市で採取した試料の重量(乾重量)g

水準	B ₁	B ₂	B ₃
A ₁	61 (45)	435 (303)	680 (500)
	75 (50)	545 (426)	595 (480)
A ₂	75 (50)	550 (410)	522 (395)
	106 (55)	520 (385)	530 (418)
A ₃	90 (64)	420 (310)	432 (340)

いであろう。一方、Bの水準間には、表5、すなわち、美麻村の試料では有意差があり、表6の飯田市のそれには差は認められなかった。すなわち、前者ではB₂ > B₃ > B₁が表3からいえるであろうし、後者では表4からB₁ > B₂ > B₃の傾向がうかがえるが、この差はないといった方がよいであろう。

Aの各水準について、3台のツルグレン装置A_i(i=1,2,3)から落下した土粒をまとめたものが図2である。落下量は、明らかにA₁ > A₂ > A₃の順であり、A₃の量は著しく減少している。また、右側の飯田市の試料からの落下量は、左側のそれよりやや多目であった。天竜川の河岸段丘の、細砂質に富む土壌であったことが関係したものと思われる。また、24時間ごとの虫体落下状況を見ると、不測の消燈事故のあったA₁B₂からの10個体を除く表3の52個体については、34個体が最初の24時

表3. 美麻村で抽出された恙虫幼虫の個体数と種類 (1984・XI・14)

水準	B ₁	B ₂	B ₃	合計	平均
A ₁	0	10 (LP---4 LI---4 LPP--2)	3 (LP---1 LI---2)	13	4.3
A ₂	0	12 (LP---2+① LI---6+① GS---2)	3 (LP---2 LPP--1)	22	3.7
A ₃	2 (GS---2)	6 (LI---6)	3 (LI---3)	27	4.5
	0	10 (LP---6 LI---2 LPP--2)	6 (LP---6 LI---① LPP--2)		
合計	2	43	17	62	
平均	0.4	8.6	3.4		4.1

LP—フトゲツツガムシ, LI—アラトツツガムシ, LPP—ヒゲツツガムシ, NJ—ヤマトツツガムシ,
GS—サダスクツツガムシ, ○は飽食落下個体

表4. 飯田市で抽出された恙虫幼虫の個体数と種類 (1984・XII・3)

水準	B ₁	B ₂	B ₃	合計	平均
A ₁	4 (LP---1 HM---3)	3 (LP---② HM---1)	7 (LP---1+⑤ GS---1)	14	4.7
A ₂	4 (LP---2 HM---2)	7 (LP---1+④ HM---2)	2 (LP---① NM---1)	22	3.7
A ₃	2 (LP---1 HM---1)	4 (LP---3 LF---①)	3 (LP---2+①)		
	8 (LP---6 NM---1 HM---1)	5 (LP---2+③)	4 (LP---② NM---2)	25	4.2
	5 (LP---4 LF---1)	2 (LP---1+①)	1 (LP---1)		
合計	23	21	17	61	
平均	4.6	4.2	3.4		4.1

LF—フジツツガムシ, NM—ミタムラツツガムシ, HM—ミヤガワタマツツガムシ, 他は表3と同じ。

表5. 表3の要因分析表

表6. 表4の要因分析表

変動要因	変動	自由度	分散	変動要因	変動	自由度	分散
篩 A	0.26	2	0.13	篩 A	0.15	2	0.08
地層 B	12.53	2	6.27*	地層 B	0.29	2	0.05
交互作用 AxB	0.41	4	0.10	交互作用 AxB	1.69	4	0.42
誤差 R(AB)	1.80	6	0.30	誤差 R(AB)	1.13	6	0.19
全体 ABR	15.00	14		合計 ABR	3.26	14	

※5%危険率で有意

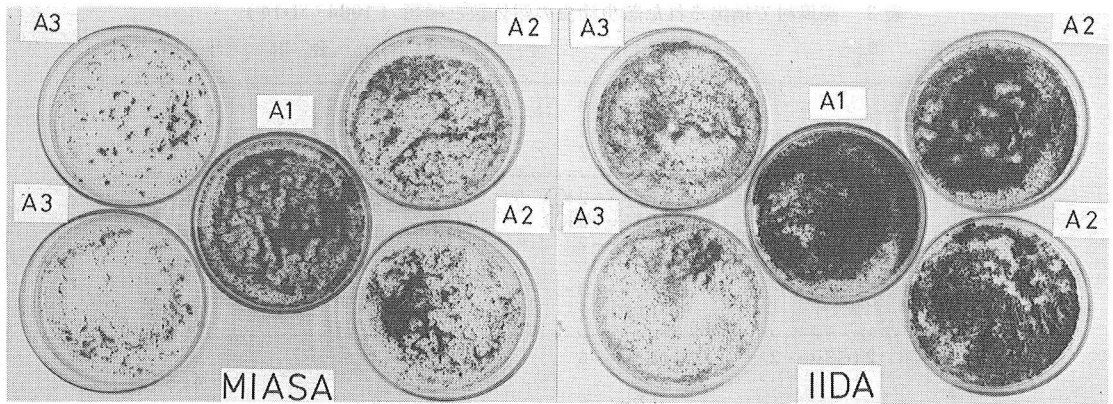


図2. 3台A_i (i = 1, 2, 3) のツルグレン装置から作動中に落下した土粒

間以内に、17個体が次の24時間以内に落下し、残る1個体が4日後にA₁B₃から回収されている。一方、表4の61個体の落下はやゝ早く、60個体までが最初の24時間以内に落ち、1個体だけが次の24時間以内にA₁B₃から抽出されている。そして、今回の観察時間のとり方では、紙製篩の有無とスリットの大小が虫体の落下に要する時間を変えることは観察されなかった。なお、表4の個体が表3のそれより早目に落下したことは、試料となった土壌の物理的性状のちがいと関係するものとみられる。

考 察

野鼠に寄生する恙虫類を調べて、恙虫類の環境依存性が大きいこと、そしてときには宿主のホームレンジの単位でその分布を考えてゆかなくてはならないことを指摘してきた(内川ら, 1983)。このような問題をさらに細部にわたって検討しようとするとき、不可視的な部分の多い鼠類の行動域に関する情報を集めながら調査を進めるよりも、自然宿主を介することなく恙虫類を採集する方法を確立して、それらが可視的環境条件のちがいに依りてどう変化するかをきめ細かく調べることの方が有利であろうと考えた。また、これまでに幾種類かの恙虫に明確な宿主嗜好性の認められる場合のあることを示した(内川ら, 1984b)。このことは、ある種類の鼠が一つの地域に発生する恙虫類の一部の種類を選択的に宿してしまうことを意味する。したがって、自然宿主調査法によって得られる資料について、宿主の種ごと、調査地の場所ごとの差異の意味付けをするために、他の調査法を導入して資料を追加してゆかなくてはならない。さらに、自然宿主調査法では、宿主の捕獲作業に相当な時間と労力を費やし、それでなお十分な資料が得られないことがある。また、一方には、鼠当りの寄生恙虫数が1,000から3,000を超えることがあり(内川ら, 1984a)、これ程の量を抽出してその処理に時間をさかなくても、恙虫類

の発生動態を推測することは可能であろう。このような作業効率の面からも、調査法の再検討が望まれる。以上が、恙虫類の直接採集法の一つであるツルグレン法を重視し、その実用化を図るために今回手技上の問題を取り挙げたおもな理由である。

鈴木氏のツルグレン装置を予備的に使った段階で、虫体とともに落下する土粒量の多少が、虫体回収の作業量に大きく影響したことから、落下土粒量を抑えることが多数のサンプルを処理する上での課題であろうと考えた。そこで、紙製篩で金網面を覆い、土壌と網目の接触面積を小さくしたところ、網面の9割がたを塞いでも各所にスリットがあいていれば、落下虫体数や落下時間に悪い影響を及ぼすとは思われなかった。紙製の篩では、試料を載せたとき、不均一な加重によってスリットの両縁が平面上におかれたときは異った間隔で開く可能性がある。今回の結果は、このような問題をこみにして、用いた篩の実用性を示唆したものと受け止められる。この篩は、抽出終了時には乾燥状態にあり、無傷のまま回収されるので、繰り返し使用することが可能である。そして、このような1種のアダプターは、さらに永続的な製品を作って装置を改良しようとするとき、参考になるはずである。

地表面から地中の浅い部位に生息する恙虫類を層別に調べたのには、効率的な試料採取部位を定めるための資料を得ようとした他に、人体に恙虫病の病原体を伝えるフトゲツガムシLPの生息部位が他種のそれと異なるか否かを併わせて調べようとする意図も含まれていた。調査の結果、美麻村の試料では、地中0~2cmの深さに生息密度が高く、2~5cmの層がそれにつき、地表のlitterには生息数が非常に少ないことが示された。一方、飯田市の試料では、むしろ上層ほど幼虫が多目に生息していたが、3層の生息密度に有意な差は認められなかった。このような両地におけるちがいの一部については、出現

した恙虫の種類とその生理状態の差から説明できるように思われる。すなわち、表4のミヤガワタマツツガムシHMは、体が深紅色で通常キジなどの鳥類に寄生する地表生息性の種類であることから、本種が美麻村の調査地点に出現しなかったことはB₁の個体数を少なくしたことにつながる。また、飯田市では飽食落下虫体が比較的多かったが、この令期は活動休止期にあたり、このような生理状態にある虫体が地中深くに潜入してB₈の個体数を増加させたことが十分に考えられるところである。一方には、フトゲツツガムシの未吸着幼虫のように、両地で異った層別分布を示した種類がみられている。重視した種類であるだけに、分布部位のこのような差異をもたらす原因を改めて調べてゆかなくてはならない。また、今回の試料採取法では、地中5cmの深さにまで恙虫が生息していることが示されており、さらに深部における分布状態を調べることも必要になっている。したがって、どの部位から試料を採ってゆくべきかは、調査の目的に応じて定めてゆかなくてはならないことを、今回の調査結果は示唆したものと考えられる。なお、表3には、litter内から回収されたサダスクツツガムシGSが記録されているが、本種はその白い体色が示すように地中生活者である。表1は、A₃B₁の一つにlitter(ススキの枯死茎)が特に多かったことを示しており、その下部が堆肥状になっていたことが、本種をこの区に出現させたものと思われる。小さな方形区間の不均一性が、目にみえる形で現われた事例である。

今後の調査では、方形区の大きさや数を定めることが大切な課題になるであろう。今回、20×20cmの試料から抽出された恙虫数は、表3～4の試料採取部位Bによる影響を無視し、美麻村、飯田市におけるそれぞれ5回の抽出(A₁が1回、A₂、A₃がそれぞれ2回)と考えると、美麻村で平均が12.4、分散が12.8、飯田市で平均が12.2、分散が13.7となる。恙虫類の発生量が比較的多い時期の値として、サンプルの大きさや数を考慮する際に参考にすべきものであろう。

おわりに

恙虫病の疫学上必要と思われる資料を集める過程で、恙虫類の生態に未知の部分があまりにも多いことに気がつくようになった。2、3の恙虫病媒介種を重点的に調査

し研究することの重要性を認めるとしても、そこへのアプローチには種々な道筋があるはずである。身近に普通に生息する恙虫類全体を取り上げ、その中のごく一部の種として媒介種をとらえ、他の多くの種類と対比しながら生態を解明してゆくことも一つの方策であろう。また、環境依存度が高いと考えられる恙虫類の分布域を種ごとに特定して、恙虫類を環境指標生物としてゆく試みがあってもよいと考えられる。このような観点に立てば、種々な方法に従って資料を集めていくことが必要であり、すでに指摘したように従来から広く用いられている自然宿主調査法だけでは解決できない問題を生じている。

今回は、利用性の大きいと思われるツルグレン装置による採集法を取り上げ、作業量を軽減して利用効率を高めようと考えた。そして、落下虫体の分離回収を容易にするために紙製篩を試作して用いたところ、実用に供し得るものと思われた。一方、地表附近のどの部位から試料を採ればよいかを検討するために、litter, 0～2cm, 2～5cmの深さの土壌を分けて採取して恙虫類の抽出を試みたところ、一定の傾向がとらえられず、試料の採取部位は調査の目的に応じて定めていくべきであろうと考えられた。ともに、今後の調査のために生かされるべき知見であろう。

この調査には、文部省科学研究費(57480392)の一部を当てた。

文 献

鈴木 博(1973): 南西諸島における医動物学的研究一予報, 1, 奄美大島南部の恙虫相について, 衛生動物, 24: 135-142.

竹内 啓・藤野和建(1981): 2項分布とポアソン分布. 262pp., 東大出版会, 東京.

内川公人・山田喜紹・熊田信夫(1983): フトゲツツガムシ *Leptotrombidium pallidum* の棲息環境に関する一知見, 信大環境科学論集, 5: 72-77.

内川公人・山田喜紹・熊田信夫(1984a): 長野県における恙虫病の発生と媒介ツツガムシ類に関する調査の現状, 信大環境科学論集, 6: 63-70.

内川公人・山田喜紹・佐藤 潔・熊田信夫(1984b): 長野県の恙虫類に関する基礎調査, 衛生動物, 35: 233-243.