

博士論文

形態が類似する2種の淡水生ハリガネムシ
Chordodes japonensis 及び *C. formosanus* の
生態学的知見の検討と比較のための基礎的研究

2024年3月

広島大学大学院統合生命科学研究科

生物資源科学プログラム

谷聖太郎

要約

[緒言]

類線形動物門 (Nematomorpha) ハリガネムシ綱ハリガネムシ目に属する淡水生ハリガネムシ (Gordiida) は、成体は河川や湖沼など淡水中の自由生活種であるが、幼体は水生昆虫等への寄生を介して陸生節足動物に寄生する生物群である。国内では 5 属 15 種の淡水種が記録されているが、このうちの *Chordodes* 属は、主にカマキリやゴキブリなどに寄生することが知られ、国内で 4 種が記録されている。このうち、*C. japonensis* 及び *C. formosanus* の 2 種はそれぞれ普通種オオカマキリ及びハラビロカマキリに寄生することが知られるが、それぞれの形態は類似しているため、過去において同種として扱われ、2 種に関する情報の混乱が生じていた可能性がある。そこで本研究では、この 2 種のハリガネムシが利用する陸生宿主昆虫に着目し、野外調査及び飼育実験によって 2 種の宿主範囲と寄生性を部分的に明らかにした。さらに、西日本広域における採集試料の遺伝子を解析し、遺伝子型の分布や頻度からその集団遺伝学的特性を明らかにし、集団形成過程について考察した。以上により、2 種の生態学的知見を再検討し、これを拡充することを本研究の目的とした。

[材料・方法]

野外におけるハリガネムシ 2 種の宿主範囲の調査

2018 年から 2022 年まで、広島大学東広島キャンパス周辺地域にて、秋季 (10 月から 11 月) に出現する *Chordodes* 属ハリガネムシ成体を採集し、寄生した宿主種を調査した。その後、ハリガネムシの体中部切片試料からゲノム DNA を抽出し、PCR 法によって増幅した mt-COI 遺伝子の断片配列を決定し、DNA バーコーディングによって種同定を行って、宿主種-寄生虫種の組み合わせを決定した。

飼育実験による 2 種の宿主特異性の検証

実験室内で孵化させたハリガネムシ *C. japonensis* 及び *C. formosanus* の 2 種の幼生を、同じく実験室内で孵化させたカマキリ 3 種 (オオカマキリ *Tenodera sinensis*; チョウセンカマキリ *T. angustipennis*; ハラビロカマキリ *Hierodula patellifera*) に接種し寄生性を検証した。また、後述の宿主共有性や寄生虫間の種間関係の検証のため、チョウセンカマキリでは双方の幼生を接種した交叉試験区を設けた。

日本型遺伝集団の系統地理・集団遺伝学的検討

2022年および2023年の秋季に、西日本（九州・四国・中国地方）の地域にて採集した計162の試料について、前述と同様に塩基配列を決定、ハプロタイプを推定し、9つの引用データを加えた西日本集団のTCSネットワークを作成した。各地域集団の集団形成過程をシミュレーションモデルとの差の検定により推定し、また各集団の総当たりによる遺伝子変異を検定し、これにより適当であると推定されたグループ分けによる分子分散分析（AMOVA）を実施した。さらに*C. formosanus*については、台湾における同種の塩基配列データを引用し、同様の集団比較を行った。

[結果]

野外におけるハリガネムシ2種の宿主範囲の調査

2種のハリガネムシの宿主とみなされた昆虫種は、カマキリ目で2科5属6種、バッタ目で1科2属2種、合計34個体であった。このうち、*C. formosanus*はカマキリ目4属5種、及びバッタ目1種に対する寄生が確認され、最頻種はハラビロカマキリであった。一方ではカマキリ目2種、及びバッタ目1種に対する寄生が確認され、前者と比較してカマキリ目における宿主種数が少なく、また*Tenodera*属のカマキリ（オオカマキリ及びチョウセンカマキリ）に限定された。さらに、このうちのチョウセンカマキリは双方のハリガネムシで寄生を確認した。

飼育実験による2種の宿主特異性の検証

寄生虫接種の結果について、*C. japonensis* 投与による寄生成立の可否は、オオカマキリとチョウセンカマキリの一部でポジティブ、ハラビロカマキリの全てでネガティブとなり、*C. formosanus* 接種による寄生成立の可否は、ハラビロカマキリとチョウセンカマキリの一部でポジティブ、オオカマキリの全てでネガティブとなった。

日本型遺伝集団の系統地理・集団遺伝学的検討

C. japonensis では、54の試料及び引用データの遺伝子変異に基づき、計22のハプロタイプが検出された。ネットワークでは、主要なハプロタイプから放射状に小ハプロタイプが分岐する花火型樹形が出現し、集団拡大モデルからの有意な逸脱は見られなかった。試料が主に東広島由来のものに偏ったため、各地域集団における遺伝子型の出現頻度を正確に比較することはできないが、西日本集団広域に共有される主要型が存在し、各地域間の遺伝子流動が生じている可能性が推定された。

C. formosanus では、西日本地域広域の171の試料及び引用データの遺伝子変異に基づき、計25のハプロタイプが検出された。ネットワークでは、3つの頻度の高い遺伝子型によってその端部に出現頻度が偏り、概して前者のものより複雑な樹形となった。各地域集団で

は主要遺伝子型の共有が見られたものの、一定地域間では有意な遺伝子変異が推定された。また、西日本-台湾集団間ではいずれの遺伝子型も共有されず、有意な遺伝子変異が推定され、さらに、ネットワーク樹形の特徴も異なった。よって、それぞれ独自の遺伝子変異と過程の異なる集団形成が生じたと推定された。

[考察・総合討論]

宿主範囲に関して

5年間の野外調査により、2種の宿主として計8種の陸生昆虫が見出され、日本における *C. japonensis* と *C. formosanus* が寄生する昆虫種がより詳細に明らかとなり、それぞれの宿主パターンの違いも明らかとなった。このうち、*C. japonensis* の宿主種は過去の文献による知見と差異がないが、*C. formosanus* の宿主種として新たに4種を追加した。これには、国外外来種と考えられ、2019年に東広島市で初めて確認されたムネアカハラビロカマキリ *H. chinensis* が含まれるが、日本国内において共存してこなかった宿主-寄生虫の組み合わせで寄生が成立する点は興味深い。また、双方の種でバッタ目への寄生が確認されたが、バッタ目はカマキリ目に比べて遥かに多様であり、日本においては、カマキリ目は3科13種が記録されるのに対して、バッタ目では15科439種が確認されている。よって、2種が利用する宿主範囲は、本研究や先行研究にて見出されたものよりも広範囲である可能性が残されている。

宿主特異性に関して

飼育実験における2種の寄生虫の寄生能は、宿主範囲調査の結果と違いなく対応した。従って、宿主調査で見られた宿主-寄生虫の組み合わせの決定的な違いは、寄生虫や宿主の生息環境・出現時期・宿主の餌生物などの要因により生じた寄生前の隔離（物理的接触の有無）によるものではない可能性があり、むしろ宿主・寄生虫間の生理的な要因（宿主の生体防御への対応性や分子標的性の違いなど）の関与が推察される。また、2種に共有されていた宿主チョウセンカマキリを用いた交叉試験により、両種は1個体の宿主体内にて共存可能であることが判明した。従って、少なくとも片方を完全に排除するような種間相互作用はないと考えられる。一方で、実験結果における寄生虫個体数の少なから、種間競争の有無、またはその優劣については判断ができなかった。

2種の集団遺伝学的性質について

C. japonensis においては、後者のような広域の地域に由来する試料が多く得られず、西日本全体における集団遺伝学的特性を推定することはできなかったが、少なくとも中国地方南西部では、過去に複数の創始者の遺伝子型集団が進出し、近年において急激にその集団が拡大している（もしくはした）ことが推定された。また、他地域集団との遺伝子プール

の類似性も推察され、ごく近年から現在における相互の遺伝子流動経路の存在が示唆された。一方で、中国南西部集団では出現せず、かつ比較的深く分化した遺伝子型が九州地域にて複数出現したことから、同地域における異質な遺伝子変異と集団形成が示唆された。より正確な推定のためには、今後さらに試料を追加する必要がある。

C. formosanus においては、西日本集団の詳細な集団遺伝学的特性が明らかとなった。地域集団間の遺伝子変異のパターンからは、他の水生生物にも見られる山岳や海峡を挟んだ遺伝的障壁による分断が示唆された。その一方、広域で出現した複数の主要遺伝子型及び派生型は、これらの障壁を超えて分布していた。これにより、障壁のない過去の期間に分散したと考えられる集団の存在が示唆された。自由生活期における本種の分散能力は明らかに低いため、これらが示す地域間の遺伝子流動は、水生昆虫たる待機宿主の分散と、陸生昆虫たる最終宿主の分散の双方の影響を受けた経路を介したものであると推察される。さらに、西日本集団と台湾集団の間には、明瞭な地理的隔離による遺伝的分化が見られた。また、台湾集団は急激な集団の拡大による遺伝的集団形成が推定された一方、西日本集団はより複雑な形成過程を経たことが推定された。このような差異は、おそらく日本列島の多様な環境と複雑な形成史によって生じたと考えられる。