

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26840127

研究課題名(和文) アジアにおける陸棲肉食性ヒル類の多様性

研究課題名(英文) Species Diversity of Terrestrial Predatory Leeches in Asia

研究代表者

中野 隆文 (Nakano, Takafumi)

広島大学・教育学研究科・特別研究員 (PD)

研究者番号：50723665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：陸棲捕食性ヒル類の、東アジアに分布するクガビル科と東南アジアに分布するイツウコウビル科について、その種多様性・分類学的地位・進化史を解明するべく系統分類学的研究を行った。クガビル科については、日本各地より新たに採集した標本に基づいて7種を新種として記載すると共に、体環様式・性成熟サイズなどの形質状態の進化を明らかにした。加えて、クガビル類に見られる「胃通管」と呼ばれる器官が、交接時に精包を受け取る機能を有することを明らかにした。イツウコウビル科については、既知種のタイプ標本の再検討と新たに得られた標本の検討によって、科の分類学的地位について新たな知見を得ることが出来た。

研究成果の概要(英文)：The terrestrial macrophagous orobdellid leeches, and gastrostomobdellid species have been known from East Asia, and Southeast Asia, respectively. Based on the newly collected Orobdella specimens from Japan, 7 nominal taxa have been described as new species under the genus. The phylogenetic analyses based on the 18 known Orobdella species revealed that character states of each of the mid-body somite annulation and body size of mature leeches have evolved in parallel within this group. Additionally, it was unveiled that the Orobdella gastroporal duct is an accessory copulatory organ that receives a spermatophore during copulation. The species diversity of the gastrostomobdellid leeches remains unclear. But the type specimens of the known Southeast Asian predatory species and newly collected specimens from Thailand and Borneo highlighted that the systematic status of the family Gastrostomobdellidae should be revisited.

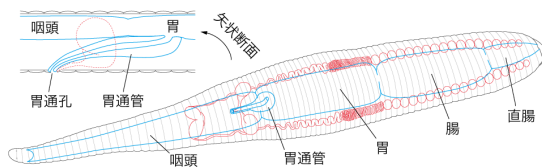
研究分野：動物系統分類学

キーワード：東アジア 東南アジア ヒル類 新種 再検討 胃通管

1. 研究開始当初の背景

(1) 捕食性ヒル類であるクガビル科 (= クガビル属) とイツウコウビル科 (= イツウコウビル属) は東・東南アジア地域のヒル類相を特徴付ける分類群である。どちらも陸棲でなおかつ陸棲貧毛類を専食する分類群であると考えられ、東アジアにはクガビル科が、東南アジア (北限はマレー半島) にはイツウコウビル科が分布している。しかしながら、ヒル類としては生息環境が特殊で、なおかつ概して個体群密度が低いため、標本収集が十分になされてこなかったため、その真の種多様性と系統関係や形態形質の進化史は長らく不明であった。

(2) また、これら二つの科は、「胃通管」という特殊な器官によって特徴付けられる (下図)。クガビル科の胃通管とイツウコウビル科の胃通管の形質状態は異なっているが、いずれにせよどちらの胃通管も、腹面に開口し、胃に通じる管状構造であることは共通している。しかしながらこの胃通管の機能は発見されて以降長らく不明であり、捕食性ヒル類の進化史を考察する上でも、その機能の特定が待たれていた。



(3) 研究代表者のこれまでの研究により、特にクガビル科の偽隠蔽的な種多様性が明らかになってきた。それまで4種しか知られていなかったクガビル科の種数は11種まで増えた。更に1体節あたりの体環様式 (4・6・8) について、6体環がクガビル科内において平行的に獲得されたこと、そして退化的な胃通管を有する種の存在が明らかになった。また、性成熟サイズにも違いが見られた。多くの種が体長10cm程度 (中型) でありながら、8体環種 (ヤツワクガビル *Orobdella octonaria*) の体長は20cm (大型種) に達することが知られていたが、更に4体環種の内の1種 (コイケクガビル *O. koikei*) は、その体長が5cmに満たなくても性成熟していること (小型) が判明した。

2. 研究の目的

以上の研究背景より、本研究課題では以下3点をその目的として設定した。

(1) クガビル科の真の種多様性を明らかにすると共に、主要な形態形質の獲得、進化を明らかにする。

(2) クガビル科あるいはイツウコウビル科が有する胃通管の機能を明らかにする。

(3) イツウコウビル科については既知分類群

の再検討を行うと共に、インドシナ地域における分布の有無を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究課題では、形態観察と分子系統解析 (核DNA: 18S rRNA, 28S rRNA, histone H3; ミトコンドリア: COI, 12S rRNA と近傍領域, ND1) という通常の系統分類学的手法を用いて研究を進めた。

(1) クガビル科の研究においては、日本国内 (特に東北・甲信越・中国・四国地方) と台湾における採集調査を実施した。それにより新たに得られた標本と研究代表者がこれまでの採集調査で集めた標本に基づき研究を行った。

(2) 胃通管の機能解明においては、(1) より得られた標本の中で、機能解明の手かかりとなる標本を見つけ次第、透過型電子顕微鏡をはじめとした構造観察を行った。

(3) イツウコウビル科については、東南アジアより記載された捕食性ヒル類の名義種のタイプ標本を再検討した。標本はロンドン自然史博物館・フンボルト博物館・ライデンナチュラリス生物多様性センターにそれぞれ収蔵されており、それら標本を貸出、解剖することで、分類学的位置の再評価を行った。

加えてインドシナ半島 (ベトナムとタイ) の山岳地域においてイツウコウビル科ヒル類を対象とした採集調査を実施した。

4. 研究成果

(1) クガビル科の種多様性と進化史

① 日本国内における採集調査によって、東北地方より4種、甲信越地方より1種、中国地方より1種、そして四国地方より6種の未記載種標本を新たに採集することが出来た。

② 甲信越地方より得られた未記載種は4体環の小型種であった。これは小型種としては2番目の発見で、他の形質状態についても明確に区別することが可能であったため、クロイワクガビル *O. masaakikuroi* として新種記載した。

また分子系統解析において、クロイワクガビルは本州に分布する4体環中型種 (ヨツワクガビル *O. whitmani*) と姉妹群となることが明らかになり、クガビル科において「小型」という形質状態が平行的に獲得されたことを明らかにした (以上、発表済み雑誌論文9)。

③ 中国地方より得られた未記載種も4体環の小型種であった。したがって、この未記載種の発見でクガビル科における小型種は3種となった。他形質状態についても他種とは明瞭に区別できるため、コマイクガビル *O. naraharaetmagarum* として新種記載した。

分子系統解析の結果、コマイクガビルは九州に分布する4体環中型種 (ミヅカケヨツワクガビル *O. esulcata*) と姉妹群となることが明らかになり、クガビル科における小型化は

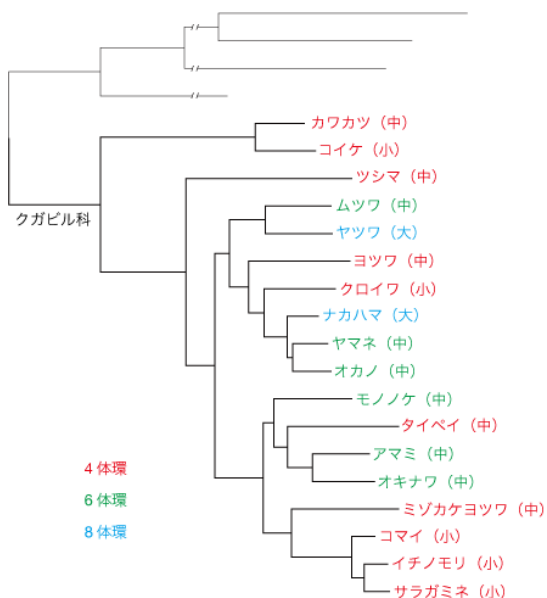
少なくとも3回生じていることが判明した(雑誌論文6)。

④ 四国ならびに周辺島嶼より得られた6未記載種の内5未記載種について新種として分類学的位置を確定させ、記載論文を発表した(下図)。5種の内2種(イチノモリクガビル *O. brachyepididymis*・サラガミネクガビル *O. kanaekoikeae*)は4体環小型種, 2種(オカノクガビル *O. okanoi*・ヤマネクガビル *O. yama-nae*)は6体環中型種, そして残りの1種(ナカハマクガビル *O. nakahamai*)は8体環大型種であった。ナカハマクガビルは8体環大型種としては2例目となる発見であった。



分子系統解析の結果, イチノモリクガビルとサラガミネクガビルは同様に4体環小型種であるコマイクガビルと近縁であることが判明し, 4体環小型の共通祖先から種分化が起こった事が判明した。加えて, オカノクガビルとヤマネクガビルとは既知の6体環系統群には属さないことと, ナカハマクガビルもヤツワクガビルとは姉妹群とならず, オカノクガビル・ヤマネクガビルと近縁であることが明らかになった(雑誌論文1, 5)。

以上の結果よりクガビル科の既知種数は18種となり, 本研究課題により新たに計7新種を記載することが出来た。更に分子系統解析の結果から, 以下の通り, 本科における形態

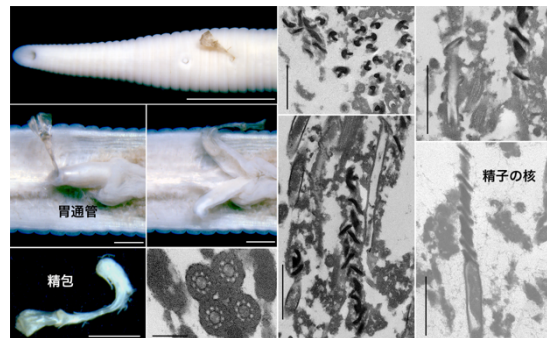


形質状態の進化を推定することが出来た(左段最下図)。

- ・祖先形質状態は4体環・中型。
- ・小型化は少なくとも3回平行的に生じた。
- ・6体環も少なくとも3回平行的に獲得。
- ・8体環は少なくとも2回平行的に獲得。
- ・大型化と8体環はセットで生じた。
- ・ただし8体環種は常に6体環種の系統と共に生じる。

(2) クガビル科に見られる胃通管の機能

サラガミネクガビルの標本採集中に, 交尾中の個体を採集することが出来た。その後通常の手法で標本にし, 形態を観察していたところ, 胃通管に白色のカプセル状構造物が充填されていることを確認した。このカプセル状構造物の正体を特定するために透過型電子顕微鏡で内容物の観察を行った。するとカプセル内にはヒル類の精子が見られたため, カプセル状構造物はクガビル類の精包であることが判明した。これはクガビル類の精包の初報告であると共に, クガビル類の胃通管が精包の受容器官であることを明らかにした(下図)(雑誌論文1)。



(3) イツウコウビル科の再検討

① 東南アジアより過去に記載された4種(*Mimobdella buettikoferi*・*M. thienemanni*・*Scaptobdella horsti*・*S. sumatrensis*)のタイプ標本を調査したところ, これら4種は全てクガビル科・イツウコウビル科に見られる咽頭の形質状態を有しており, これまでの分類学的位置が誤りであることが判明した。

② タイの採集調査によって, 陸棲捕食性ヒル類が得られた。加えて, ボルネオ島より得られた陸棲捕食性ヒル類を調査する機会を得た。それら標本の形態観察ならびに分子系統解析を行ったところ, これら2地域の捕食性ヒル類は過去に記載された上記4種と形態的に類似しており, なおかつ, イツウコウビル科既知種と姉妹群となることが明らかになった。以上の結果より, 東南アジアより過去に報告された捕食性ヒル類は全てイツウコウビル科に帰属させるのが適当であるとの結論を得た。またイツウコウビル科の分布域はマレー半島以南の地域に限らず, イツウコウビル類はインドシナにも生息することが明らかになり, 今後インベントリー調査を行う上で重要な知見が得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

1. Nakano, T. A new species of *Orobdella* (Hirudinida: Arhynchobdellida: Orobdelellidae) from Japan reveals the function of the *Orobdella* gastroporal duct. *Zoological Science*, 査読有り, 34, 2017, 161–172.
doi: 10.2108/zs160167
2. Nakano, T., Lai, Y.-T. First record of *Poecilobdella nanjingensis* (Hirudinida: Arhynchobdellida: Hirudinidae) from Taiwan and its molecular phylogenetic position within the family. *Species Diversity*, 査読有り, 21, 2016, 127–134. doi: 10.12782/sd.21.2.127
3. Nakano, T., Meyer-Rochow, V.B. First record of *Mimobdella japonica* (Hirudinida: Arhynchobdellida: Salifidae) from Hachijojima island, Izu Islands, Japan, with a comment on the genetic diversity of the species. *Species Diversity*, 査読有り, 21, 2016, 49–54.
doi: 10.12782/sd.21.1.049
4. Nakano, T., Jeratthitikul, E., Nguyen, T.T., Panha, S. A new species of *Tritetrabdella* (Hirudinida: Hirudiniformes: Haemadipsidae) from northern Indochina. *Raffles Bulletin of Zoology*, 査読有り, 64, 2016, 105–116.
http://lknhm.nus.edu.sg/nus/images/data/raffles_bulletin_of_zoology/vol64/64rbz105-116.pdf
5. Nakano, T. Four new species of the genus *Orobdella* from Shikoku and Awajishima island, Japan (Hirudinida, Arhynchobdellida, Orobdelellidae). *Zoosystematics and Evolution*, 査読有り, 92, 2016, 79–102.
doi: 10.3897/zse.91.7616
6. Nakano, T. A new quadrannulate species of *Orobdella* (Hirudinida, Arhynchobdellida, Orobdelellidae) from western Honshu, Japan. *ZooKeys*, 査読有り, 553, 2016, 33–51.
doi: 10.3897/zookeys.553.6723
7. Nakano, T., Nguyen, S.T. A new predatory leech from Vietnam (Hirudinida : Arhynchobdellida : Salifidae): its phylogenetic position with comments on the classification of the family. *Invertebrate Systematics*, 査読有り, 29, 2015, 473–486. doi: 10.1071/IS15008
8. Nakano, T., Dujsebayaeva, T., Nishikawa, K. First record of *Limnatis paluda* (Hirudinida, Arhynchobdellida, Praobdelellidae) from Kazakhstan, with comments on genetic diversity of *Limnatis* leeches. *Biodiversity Data Journal*, 査読有り, 3, 2015, e5004.
doi: 10.3897/BDJ.3.e5004
9. Nakano, T. A new quadrannulate species of *Orobdella* (Hirudinida, Arhynchobdellida, Orobdelellidae) from central Honshu, Japan. *ZooKeys*, 査読有り, 445, 2014, 57–76.

doi: 10.3897/zookeys.445.7999

[学会発表] (計4件)

1. 中野隆文. 山地にうごめく巨食性ヒル類：分類学的再検討と胃通管. 第16回日本分類学会連合公開シンポジウム, 2017年1月7日, 国立科学博物館上野本館(東京都・台東区).
2. Nakano, T. Revisiting Asian macrophagous leeches: veiled taxonomic status of giant worms. The 22nd International Conference of Zoology, 2016年11月18日, 沖縄コンベンションセンター(沖縄県・宜野湾市).
3. 中野隆文. アジアにおける捕食性ヒル類(イシビル形亜目)の多様性と系統. 環形動物の分類学に関するシンポジウム: 日本およびその周辺におけるこれまでの知見と今後の課題, 2015年11月19日, 東京大学大気海洋研究所(千葉県・柏市).
4. 中野隆文. 本州産クガビル属(ヒル亜綱: 吻無蛭目: イシビル形亜目)の一未記載種について. 日本動物分類学会, 2014年6月9日, 国立科学博物館筑波研究施設(茨城県・つくば市).

[その他]

研究代表者個人ホームページ

<http://hiru-bunrui.sakura.ne.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中野 隆文 (Nakano, Takafumi)
広島大学・大学院教育学研究科・
日本学術振興会特別研究員 (PD)
研究者番号: 50723665

(4) 研究協力者

西川 完途 (Nishikawa, Kanto)
京都大学・大学院人間・環境学研究科・
准教授
研究者番号: 10335292

Dujsebayaeva, Tatjana

カザフスタン教育科学省・動物学研究所・
上席研究員

Jeratthitikul, Ekgachai

マヒドン大学・理学部・講師

Lai, Yi-Te

国立台湾大学・生命科学研究院・研究員

Meyer-Rochow, Victor Benno

八丈島地熱館・発光生物研究所・
上席研究員

Nguyen, Son Truong

ベトナム科学技術院・生態生物資源研究所・
研究員

Nguyen, Tao Thien

ベトナム科学技術院・ベトナム国立自然博物館・研究員

Panha, Somsak

チュラーロンコーン大学・理学部・教授