

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18654

研究課題名(和文) 新規移入種マダラコウラナメクジの分布拡大とその影響

研究課題名(英文) The distribution and effect of a new alien terrestrial slug

研究代表者

宇高 寛子 (Udaka, Hiroko)

京都大学・理学研究科・助教

研究者番号：60534609

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：マダラコウラナメクジの茨城県での性成熟時期、および体重と性成熟の関係を明らかにした。また、茨木個体群で光周期が性成熟のタイミングを決める重要な環境要因であることも明らかになった。他種の繁殖におよぼすマダラコウラナメクジの影響を明らかにすることは、できなかった。国内のさまざまな地域で採集されたマダラコウラナメクジのミトコンドリアCOI遺伝子の配列を得た。さらに海外個体でのデータと合わせて解析した結果、本種の日本へは複数匹移入したことがわかった。

研究成果の概要(英文)：I studied the life cycle in *Limax maximus* in Ibaraki prefecture, Japan. Slugs with a developed penis were found through a whole year. The development of gonad and albumen gland were seasonally changed. We found that *L. maximus* start reproduction in fall. To study the effect of photoperiod on reproductive maturation juvenile slugs were reared under short-day or long-day conditions for 240 days and long-day conditions induced gonad maturation. I did not succeed in clarify the relationship between *L. maximus* to other slugs. *L. maximus* were collected in in Eastern Japan and Hokkaido to obtain mitochondrial DNA sequence (COI). The data were compared with those from slugs collected in other countries. Several haplotypes were found in Japanese population. Therefore, this result show that several individuals were introduced to Japan.

研究分野：動物生理学

キーワード：生活史 外来種 分布

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本で普通にみられるナメクジ類は、明治から現在まで2度、外来種への置き換わりが起こっている。まず、ヨーロッパ原産のキイロナメクジ *Limax flavus* が明治時代に移入し、第二次世界大戦後に大発生した。しかし、キイロナメクジは1980年代にはほぼ日本から姿を消し、現在広く見られるのは同じくヨーロッパを原産とするチャコウラナメクジ *Lehmanna valentiana* である。チャコウラナメクジは移入後約50年という短い期間で日本中に分布を拡大した。

(2) チャコウラナメクジは第二次世界大戦後に移入し、約50年という短い期間で全国へ分布を広げ、野菜や花卉の害虫または不快害虫となっている。申請者はこれまで、チャコウラナメクジの大阪個体群がヨーロッパ個体群とは異なる短日型の光周反応（一日のうちの明るい時間、または暗い時間反応する性質）をもつことで、卵が高温で死ぬ夏を避けて晩秋から春にかけて繁殖していることを明らかにした（引用文献 ）。

(3) チャコウラナメクジが日本に広く分布する昆虫など他の小動物とは異なり、性成熟に関する光周性を大きく変化させることなく気候の異なる広い地域に生息していることを明らかにした（引用文献 ）。日本におけるナメクジ類の種の変遷がどのような原因によって起きたのかはまったく明らかになっていないが、これらの結果は、チャコウラナメクジが幅広い気候条件に適した生理機構をもっていることによって、移入後約50年という短い期間で日本中に分布域を広げた可能性を示唆している。

(4) 2006年に新しい外来種であるマダラコウラナメクジ *Limax maximus* の移入が確認された（引用文献 ）。マダラコウラナメクジは成長すると体長約20cmになる大型のナメクジである（図1）。



図1 マダラコウラナメクジ

本種はヨーロッパが原産地であるが、人為的移入により現在では北米やアジアの国々に生息している。ヨーロッパや北米の個体群では8月から10月に産卵することが示されている。マダラコウラナメクジの性成熟は、チャコウラナメクジと同じく、日長によって制御されており、アメリカ、メリーランド州の個体では、春から初夏の長い日長により性成熟が誘導されることが示されている。

(5) 現在マダラコウラナメクジは日本では茨城県、長野県、福島県などでの分布が報告されているが、本種がチャコウラナメクジのように幅広い気候条件で繁殖する能力があるならば、その分布域は今後拡大していくと予想される。また、マダラコウラナメクジは攻撃的で、他種の生存率や繁殖率を低下させることがカナダの個体群において示されている。したがって、分布拡大は、農業被害だけでなく日本のナメクジ類の種構成に大きな影響を与えることが予想される。マダラコウラナメクジの日本での生活史や、日本の気候にどの程度適応できているのかは防除に重要な情報であるが、これらは現在まったく明らかになっていない。

2. 研究の目的

新規外来種であるマダラコウラナメクジが、今後日本でどこまで分布を拡大することができるのかを推定するために、現在の生活史や生理学的特性、分布拡大過程の解明を行う目的で研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 生活史の解明

マダラコウラナメクジの移入が明らかになっている茨城県土浦市で月に一度採集を行う。採集した個体の体重を量る。ナメクジは体の大きさと成熟度合いが必ずしも一致しないので、成熟時期を明らかにするため、解剖によりナメクジの主な生殖に関わる器官である両性腺（卵母細胞と精子が作られる器官）とタンパク腺（卵を覆う膜を作る器官）を取り出し、その重量を測定する。また、雌雄同体のナメクジでは、まず精子形成が起こりその後卵母細胞の発達する種が多い。どちらの性が成熟しているのかを明らかにするため、両性腺のパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色を行い精子形成の有無と卵母細胞の長径を調べる。

(2) 光周期の性成熟と成長への影響

アメリカ西海岸の個体群は長日条件（明期16時間、暗期8時間）で性成熟が誘導される、長日型の光周反応をもつことが示されている（引用文献5）。光周反応は温度によって変化することがチャコウラナメクジを含めた多

くの無脊椎動物で明らかになっているが、マダラコウラナメクジでは光周期が成長や性成熟にどのように働くかは明らかになっていない。そこで、短日条件（明期 12 時間、暗期 12 時間）または長日条件（明期 16 時間、暗期 8 時間）・20 で最長 10 ヶ月飼育を行う。4 週間ごとに体重と性成熟の有無を調べる。性成熟については、陰茎発達の有無、体重に占める両性腺重量、およびタンパク腺重量の割合を指標とする。

(3) COI 解析による分布拡大過程の推定

国内に生息するマダラコウラナメクジの遺伝的多様性を明らかにするため、茨城県内だけでなく、新たに発生が報告されている長野県や福島県でも採集を行う。採集した個体から DNA を抽出し、ミトコンドリアに存在するチトクロム酸化酵素サブユニット I 遺伝子 (mt:COI) の塩基配列について解析する。系統樹作製のための外群には同じコウラナメクジ科のチャコウラナメクジを用いる。得られた遺伝子配列データと採集地とを比較、検討する。これにより、それぞれの地域で移入が独立して起きたのかどうかなど、本種の日本での分布がどのように広がっているのかを明らかにする。

(4) 他種への影響

マダラコウラナメクジとチャコウラナメクジ、ナメクジ (図 2) を同じ時期に野外で同時期に採集する。



図 2 チャコウラナメクジ (外来種、上) ナメクジ (在来種、下)

マダラコウラナメクジとチャコウラナメクジまたはナメクジを同数ずつ餌や隠れ場所を入れた容器で飼育する。容器は野外の日陰に置き、日長と温度が自然と同じ条件で実験を行う。生存個体数や産卵数・産卵日を記録し、同様の条件で、1 種で飼育した場合と比較する。この実験は継続的な観察と飼育が必要のため、京都大学構内 (京都市) で行う。チャコウラナメクジとナメクジは可能であればマダラコウラナメクジと同様茨城県で採集した

ものを実験に用いる。これにより、マダラコウラナメクジがチャコウラナメクジやナメクジと同所的に存在した場合、チャコウラナメクジやナメクジの個体数が減少する可能性があるのかを明らかにする。

4. 研究成果

(1) 茨城県での生活史

日本での生活史を明らかにするために 2015 年 7 月から 2017 年 8 月までの約 2 年、茨城県石岡市で約 30 日ごとの定期採集を約 2 年行った。継続的にマダラコウラナメクジを採集でき、草木の伐採や農薬散布、その他予期しない環境のかく乱が行われない私有地にて採集を行った。毎回 15~30 個体を採集したが、11 月は極端に採集できる個体数が減った。

チャコウラナメクジ等では未成熟個体より小さな成熟個体も時期によっては見られる。したがって単純に体重と性成熟の有無とは一致せず、しかし、マダラコウラナメクジでは、体重と性成熟の関係をみると、採集した期間全てを通して体重が 1 g 以下の個体では陰茎は未発達、両性腺重量は低かった。このことから本種では 1 g 以下の個体は未成熟個体といえることがわかった。

一年中陰茎が発達した個体が野外で見られたが、精子と卵の両方を作る器官である両性腺が体重に占める割合は、8、9 月の短い期間にだけ高く、その後は下降した。また、両性腺の切片を作製し、観察したところ、内部に発達した精子が見られるのは同じく 8、9 月だったことから、交尾行動の時期は限定的であると推測される。

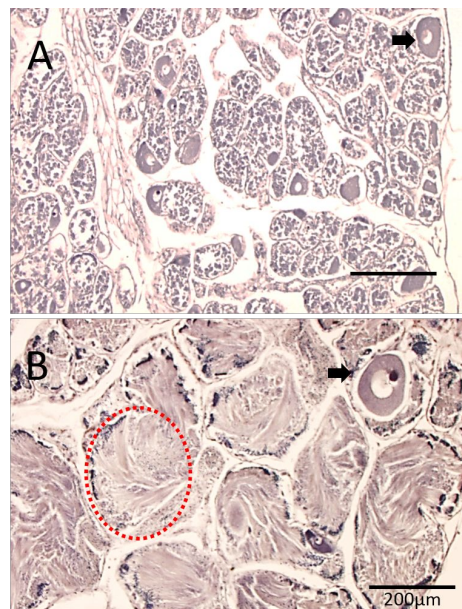


図 3 未成熟個体 (A) と成熟個体 (B) の両性腺切片像。矢印は卵母細胞。点線で囲まれた部分は遊離精子を示す。

一方、蛋白腺は 10 月から次の 2 月まで発

達していた。また、野外で卵ははやい年では9月下旬の採集時に見られた。これらのことから、マダラコウラナメクジは秋から春にかけて繁殖しており、複数年生存することが考えられた。しかし、実際の産卵や交尾時期の野外観察は行えなかったため、生活史の一部に不明な点が残った。

(2) 光周期の性成熟と成長への影響

研究開始時は、研究室内で飼育した個体から卵を得る予定であった。しかし、飼育条件で産卵する個体が少なく、また、未受精卵も多く十分な卵を得られなかったため、野外で卵を探し、研究室に持ち帰って孵化させた個体を用いた。卵はぬらした脱脂綿でくるみ、シャーレにいれ、15 で孵化させた。

孵化後48時間以内の個体を、20-40個体ずつプラスチックの飼育容器に入れ、コオロギ用人工飼料で飼育した。長日条件(明期16時間、暗期8時間)または短日条件(明期12時間、暗期12時間)・20 で飼育した。最長240日飼育し、30日ごとに体重を測定した。

また、先行研究では短日条件から長日条件への切り替えは、長日条件に維持した場合よりも、生殖腺の発達を誘導することが示されている。そこで、一部の個体は飼育後90日に短日から長日、または長日から短日条件に日長条件を変更し240日まで飼育を行った。

その結果、先行研究のアメリカ個体群同様、茨城県のマダラコウラナメクジは、短日条件よりも長日条件で両性腺発達が誘導される長日型の光周性をもつことが明らかになった。しかし、日長の切り替えによる効果はアメリカ個体群ほど明瞭ではなかった。この光周反応の違いが個体群によるものなのか、それとも飼育温度による違いなのかを明らかにすることはできなかったため、今後さらに研究が必要であるが、この反応は、野外での性成熟時期とも一致し、生活史とその背後にある生理学的機構の一端を明らかにすることができた。

(3) マダラコウラナメクジの遺伝的多様性の解明

国内1道7県、10ヶ所からそれぞれ1~16個体のマダラコウラナメクジを集めることができた。外頭膜または、足腹の一部からDNAを抽出した。Folmer et al. (1994) によるユニバーサルプライマーを検討したところ、COI 遺伝子領域を増幅させることができたので、これを用いることとした。さらに、データベースを活用し、海外個体20個体分のCOI領域のデータと合わせて解析を行った。

はじめに外群として京都で採集したチャコウラナメクジを用いて系統樹を作成したが、マダラコウラナメクジの種内変異が小さく、さらに、チャコウラナメクジとの系統関係が遠かったためチャコウラナメクジを外群とした系統樹作成では解析が困難であった。そこで、ハプロタイプに注目し、ハプロ

タイプネットワークを作製した(図4)。

その結果、日本でのガラコウラナメクジには遺伝的背景に多様性があり、たまたま侵入した1個体の子孫が全国に広がったのではなく、複数回または複数匹が移入したことが明らかになった。ハプロタイプが海外個体と一致する地域・個体もあったが、関東で多く見られたタイプは今の所海外個体での報告がない。また、海外個体のデータが不足しているため、実際にどの地域から日本にマダラコウラナメクジが移入してきたのかを特定するには至らなかった。

(4) 他種への影響

マダラコウラナメクジを実験条件で産卵させることが困難であったため、長期間飼育により繁殖への影響を明らかにすることはできなかった。

短時間、マダラコウラナメクジをチャコウラナメクジとプラスチック容器に入れると、マダラコウラナメクジがチャコウラナメクジを攻撃するような行動が観察された。また、マダラコウラナメクジ同士であっても、複数個体で飼育すると体サイズが小さい個体が攻撃され、最終的には死亡する個体もみられた。これらのことから、マダラコウラナメクジは少なくともチャコウラナメクジの分布に今後影響を与える可能性が考えられる。

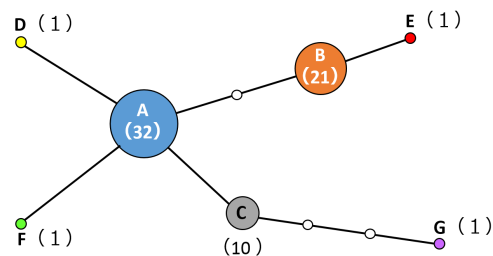


図4 国内外で採集されたマダラコウラナメクジCOIによるハプロタイプネットワーク。カッコ内の数字は個体数。

(5) 以上より、茨城県における生活史やその基盤となる光周反応、そして遺伝的構成を明らかにすることができた。飼育条件が整わず、他種の寿命や繁殖に対するマダラコウラナメクジの影響を検討することはできなかった。しかし、本研究により得られたマダラコウラナメクジの基礎的な性質の情報は、今後の本種の防除に重要な示唆を与えるだけでなく、長期的に日本に生息した場合、生活史などの性質がどのような経緯をたどるのかを知る上で重要な基礎情報を得ることができたと考える。

< 引用文献 >

Udaka et al. 2007 Seasonal

reproductive cycle in relation to tolerance to high temperatures in the terrestrial slug, *Lehmannia valentiana*, *Invertebrate Biology*, 126, 154-162.

Udaka & Numata 2008 Short-day and low temperature conditions promote reproductive maturation in the terrestrial slug, *Lehmannia valentiana*. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A*, 150, 80-83.

Udaka & Numata 2010 Comparison of the life cycle and photoperiodic response between northern and southern populations of the terrestrial slug *Lehmannia valentiana* in Japan", *Zoological Science* 27: 735-739

長谷川ら 2009 マダラコウラナメクジの日本国内への定着 ちりばたん

Sokolove and McCrone 1978

Reproductive maturation in the slug, *Limax maximus*, and the effects of artificial photoperiod. *J. Comp. Physiol* 317-325.

宇高 寛子 (UDAKA, Hiroko)
京都大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号： 60534609

(2)研究協力者

池澤広美 (IKEZAWA, Hiromi)

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)

[学会発表](計6件)

宇高寛子 外来種マダラコウラナメクジの分布と遺伝的多様性 第62回日本応用動物昆虫学会大会 2018

宇高寛子 チャコウラナメクジとマダラコウラナメクジ 移入ナメクジの今 - 日本生態学会第65回全国大会 2018

宇高寛子・池澤広美 外来種マダラコウラナメクジの日本での生活史と分布, 第61回日本応用動物昆虫学会 2017

Hiroko Udaka, Hiromi Ikezawa Life cycle of a new invasive terrestrial slug, *Limax maximus* in eastern Japan. The Joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology & the 87th meeting of the Zoological Society of Japan. 2016

宇高寛子・池澤広美 新規外来種マダラコウラナメクジの日本での生態解明にむけて 日本貝類学会平成28年度大会 2016

宇高寛子・池澤広美 新規外来種マダラコウラナメクジの茨城における生活史, 日本昆虫学会第76回大会・第60回日本応用動物昆虫学会合同大会 2016

6. 研究組織

(1)研究代表者