

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 8日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21770094

研究課題名（和文） 自由生活性線虫の分子・形態進化

研究課題名（英文） Molecular and morphological evolution on free-living nematodes

研究代表者

神崎 菜摘（KANZAKI NATSUMI）

独立行政法人森林総合研究所・森林微生物研究領域・主任研究員

研究者番号：70435585

研究成果の概要（和文）：

中米、東アジア、東南アジアの熱帯、亜熱帯域においてイチジク属植物の集合花、及び、昆虫（主として甲虫と膜翅目）から Diplogastridae 科の線虫を採集し、形態的多様性、遺伝的多様性を解析した。*Parasitodiplogaster* 属、及びその近縁属に関して口腔形態の詳細な観察を行い、新種の記載、既知種の再記載、さらには、口腔形態二型化が見られることを明らかにした。そして、これを分子系統関係と比較し、形態進化（分化）過程を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Diplogastrid nematodes were collected from *Ficus syconia* and insects (mostly beetles and wasps) from tropical and subtropical regions in Middle America, East Asia, South-East Asia and Africa. Based upon the morphological observations and molecular phylogenetic analyses, several new species descriptions and redescriptions were conducted. Further, the morphological characters were compared with molecular phylogenetic relationship, and the evolutionary history of stomatal morphologies was examined for diplogastrid nematodes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学／生物多様性・分類

キーワード：進化

1. 研究開始当初の背景

Diplogastridae 科は、昆虫便乗性／細菌食性線虫を中心に糸状菌食性、捕食性、昆虫寄生性などといった多様な生態的特性をもつ線虫の一群である。近年、本科の一種、*Pristionchus pacificus* が生物間相互作用を生理生態的に解析するため

のモデル生物として研究されるようになり、注目を集めるようになった。同時に、その背景として、このグループ全般にわたる研究が重要性を増して来た。とはいえ、この科は、経済的に重要な種が含まれていなかったことから、2000年代までは大きな注目を集めることもな

く、形式的な記載分類のみが行われており、詳細な形態観察や、形態的形質の評価はなされていなかった。2000年代に入り、いくつかの詳細な形態観察結果が報告されたが、分子系統情報や生態学的特性との対応はいまだ充分にはなされていない。

本科では例外的に研究が進められてきたグループのひとつが *Parasitodiplogaster* 属である。本属は、イチジクコバチ類を宿主、媒介者として利用する昆虫寄生性属であり、中南米やアフリカ、オーストラリア北部といった熱帯域に分布している。本属では寄生態幼虫がコバチ雌成虫の体内に侵入して、寄生しながら新たな生活環境（イチジク集合花）に運ばれる。イチジク集合花内部でコバチは産卵、花粉媒介を行った後に死亡するが、そのコバチ死亡後、線虫は虫体から脱出し、成虫に脱皮し、交尾、産卵するという、非常に興味深い生活史を持つ。

このような現状の下、申請者は *Diplogastridae* 科の形態的、生態的多様性に興味を持ち、複数の種、属に関して、これらを採集し、光学顕微鏡レベルの詳細観察、分子系統解析を開始した。そして、その過程で、塩基配列レベルでの差異と形態的差異の対応関係が属間で異なっており、*Parasitodiplogaster* 属では単系統群であるにもかかわらず形態的多様性が非常に高いとの予備的知見を得た。また、本科の複数の種、属で、過去になされた形態観察、形態記載において多数の誤認があることも確認した。

2. 研究の目的

本研究の主目的は以下の3点である。

- ・ *Parasitodiplogaster* 属の複数種に関して形態形質の再観察・再記載と分子系統関係の比較、それによる各形態形質の分類学的再評価

- ・ 線虫の生態的特性（宿主範囲や宿主利用様式：文献調査が可能）と1)で得た形態的特性の比較

- ・ 他の自由生活性属で形態的多型と遺伝的距離の相関関係を調査し、これを *Parasitodiplogaster* 属での結果と比較を行う。

上記の解析を行うことにより、

- ・ *Parasitodiplogaster* 属の分類体系の再構築。

- ・ 生態的特性が線虫のどのような形態形質に影響しているかの解明。

- ・ 寄生種で形態的多様性が高くなると言う一般的事象が自由生活性線虫類に対しても適応可能かどうかの検証。

が可能になると考えた。

そして、これらを総合的に評価することにより、自由生活性線虫から寄生性線虫への進化モデルの構築を目指した。同時に、自由生活性線虫の生態（生活史）、形態（機能）、分子進化の関係を明らかにし、寄生者と比較することにより、形態（機能）進化モデルとして有用な研究材料を供給できると考えた。

3. 研究の方法

昆虫寄生線虫の *Parasitodiplogaster* 属、及びその近縁の自由生活性線虫属を中米、東アジア、東南アジア、アフリカの熱帯、亜熱帯地域より採集し、これらに関して、詳細な形態観察を特に口腔の経常に関して行い、分類学的な再検討、記載、再記載を行った。また、ここで得られた形態に関する情報を分子遺伝学的（系統）解析結果と比較し、単位時間当たりの形態的（機能的）変異が、生態的特徴とどの程度リンクしているのか、どのような生態的要因が形態（機能）的進化に大きく影響を与えているかを考察した。

4. 研究成果

(1) *Parasitodiplogaster* 属に関して複数の新種を検出し、これらを分類学的に記載した。また、一部、以前より形態的観察結果に誤りがあると考えられていた種に関しては、状態の良い標本の原産地から得ることにより、形態的再記載、及び、系統的な位置づけの確認を行うことが出来た。

(2) 既知種の採集、観察の過程において、*Parasitodiplogaster* 属内の一部の種には他の自由生活/捕食性線虫にみられる口腔形態の二型が確認された。

口腔形態の二型化は自由生活者が環境要因の変動に適応するための形質であると考えられている。昆虫寄生線虫から構成されている同属がこのような形質を持つということにどのような意味があるのかが新たな疑問として提示された。もしくは、近縁の *Koerneria* 属や *Pristionchus* 属が同様の口腔二型を持つことから、この形質は共通祖先からの痕跡的形質である可能性も残るが、生理、生態的にコストのかかるこの形質がこれら *Parasitodiplogaster* 属線虫の生活史上どのような役割を果たしているのかといった興味深い課題が提示された。

(3) 中央アメリカとの比較対象に台湾、および南西諸島で行った調査の過程で、中央アメリカのイチジク属からは検出されない *Rhabditidae* 科の線虫が検出さ

れた。同様の線虫グループが中国、オーストラリアからも検出されていることから中央アメリカとは独立に、西太平洋地域においてイチジク属、イチジクコバチ、Rhabditidae 科の三者関係が発生している可能性が示された。さらに、過去にアフリカから得られたイチジク集合花関連線虫の標本を精査したところ、上記のいずれとも異なる Diplogastridae 科の未記載属と見られる線虫が検出され、これらに関しては今後、詳細な調査が必要であると考えられた。イチジク属の集合花を利用する線虫群集の多様性が当初の予測よりはるかに高く、また、地域的にも複雑であることが示された。

(4) Diplogastridae 科のなかで、*Parasitodiplogaster* 近縁属グループ以外の自由生活性線虫類に関しても採集し、多数の新種を分類学的に記載した。また、これらの口腔形態に関して詳細な観察を行ったところ、細菌食に特化したグループでは口腔形態がその遺伝的距離に寄らず互いに類似性が高いのに対し、捕食能力を持つ種では、比較的近縁な種類でも口腔形態の多様性が高い傾向が見られ、自由生活者においてもよく使う機能には強い選択がかかってくるという可能性が示された。

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 20 件)

- ① Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R. M., DAVIES, K. A. & CENTER, B. J. (2012). *Teratodiplogaster martini* n. sp. and *Parasitodiplogaster doliostoma* n. sp. (Nematoda: Diplogastridae) from the syconia of *Ficus* species from Africa. *Nematology* 14, 印刷中 (掲載確定), 査読有
- ② Kanzaki, N., RAGSDALE, E. J., HERRMANN, M., MAYER, W. E. & SOMMER, R. J. (2012). Description of three nematode species from Japan, *Pristionchus exspectatus* n. sp., *P. arcanus* n. sp., and *P. japonicus* n. sp., which form a cryptic species complex including the model organism *P. pacificus* (Diplogastridae). *Zoological Science* 29, 印刷中 (掲載確定), 査読有
- ③ Kanzaki, N., RAGSDALE, E. J., HERRMANN, M., MAYER, W. E., TANAKA, R. & SOMMER, R. J. (2012). *Parapristionchus giblindavisi* n. gen, n. sp. (Rhabditida: Diplogastridae) isolated from stag beetles (Coleoptera: Lucanidae) in Japan. *Nematology* 14, 印刷中 (掲載確定), 査読有
- ④ Kanzaki, N., RAGSDALE, E. J., HERRMANN, M. & SOMMER, R. J. (2012). Two new species of *Pristionchus* (Rhabditida: Diplogastridae): *P. fissidentatus* n. sp. from Nepal and La Réunion Island and *P. elegans* n. sp. from Japan. *Journal of Nematology* 44, 印刷中 (掲載確定), 査読有
- ⑤ Kanzaki, N., LI, H.-F., LAN, Y.-C., KOSAKA, H., GIBLIN-DAVIS, R. M. & CENTER, B. J. (2011). *Poikilolaimus carsiops* n. sp. (Rhabditida: Rhabditidae) associated with *Neotermes koshunensis* (Kalotermitidae) in Kenting National Park, Taiwan. *Nematology* 13: 155-164., 査読有
- ⑥ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R. M., HERRE, E. A. & CENTER, B. J. (2010). Redescription of two Panamanian nematodes, *Parasitodiplogaster citrinema* Poinar & Herre, 1991 and *P. popenema* Poinar & Herre, 1991. *Nematology* 12: 89-104., 査読有
- ⑦ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R. M., WCISLO, W. T., ZENG, Y., YE, W., CENTER, B. J., ESQUIVEL, A. & THOMAS, W. K. (2010). *Acrostichus megaloptae* n. sp. (Nematoda: Diplogastridae), a phoretic associate of *Megalopta* spp. (Hymenoptera: Halictidae) in Central America. *Nematology* 12: 453-468., 査読有
- ⑧ GIBLIN-DAVIS, R. M., Kanzaki, N., WILLIAMS, D. S., DE LEY, P., SCHREIRENBERG, E., ZENG, Y., CENTER, B. J. (2010). Ultrastructure and life history of *Myolaimus byersi* n. sp.; a phoretic associate of the crane fly *Limonia schwarzi* (Alexander) (Tipulidae) in Florida. *Nematology* 12: 519-542., 査読有
- ⑨ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R. M., WCISLO, W. T., ZENG, Y., YE, W., CENTER, B. J., ESQUIVEL, A. & THOMAS, W. K. (2010). *Acrostichus megaloptae* n. sp. (Nematoda: Diplogastridae), a phoretic associate of *Megalopta* spp. (Hymenoptera: Halictidae) in Central America. *Nematology* 12: 453-468., 査読有
- ⑩ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R. M., HERRE, E. A., SCHEFFRAHN, R. H. & CENTER, B. J. (2010). *Pseudaphelenchus vindai* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) associated with termites (Termitidae)

- in Barro Colorado Island, Panama. *Nematology* 12: 905-914., 査読有
- ⑪ GIBLIN-DAVIS, R.M., Erteld, C., Kanzaki, N., Ye, W., Zeng, Y., & Center, B.J. (2010). *Ditylenchus halictus* n. sp. (Nematoda: Anguinidae), an associate of the sweat bee *Halictus sexcinctus* (Halictidae) from Germany. *Nematology* 12: 891-904., 査読有
- ⑫ Davies, K.A., Bartholomaeus, F., Ye, W., Kanzaki, N. & GIBLIN-DAVIS, R.M. (2010). *Schistonchus* (Aphelenchoididae) from *Ficus* (Moraceae) in Australia, with description of *S. aculeata* sp. n. *Nematology* 12: 935-958., 査読有
- ⑬ Bartholomaeus, F., Davies K.A., Ye, W., Kanzaki, N., & GIBLIN-DAVIS, R.M. (2009). *Schistonchus virens* sp. n. (Aphelenchoididae) and *Parasitodiplogaster australis* sp. n. (Diplogastridae), from *Ficus virens* (Moraceae) in Australia. *Nematology* 11: 583-601., 査読有
- ⑭ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R.M., Zeng, Y., Ye, W. & Center, B.J. (2009). *Acrostichus rhynchophori* n. sp. (Rhabditida: Diplogastridae): a phoretic associate of *Rhynchophorus cruentatus* Fabricius and *R. palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) in the Americas. *Nematology* 11: 669-688., 査読有
- ⑮ Powers, T.O., Neher, D.A., Mullin, P., Esquivel, A., GIBLIN-DAVIS, R.M., Kanzaki, N., Stock, S.P., Mora, M.M. & Uribe-Lorio, L. (2009). Tropical nematode diversity: vertical stratification of nematode communities in a Costa Rican humid lowland rainforest. *Molecular Ecology* 18: 985-996., 査読有
- ⑯ Porazinska, D.L., GIBLIN-DAVIS, R.M., Farmerie, W., Powers, T.O., Kanzaki, N., Faller, L., Morris, K., Sung, W. & Thomas, W.K. (2009). Evaluating high throughput sequencing as a method for metagenomic analysis of nematode diversity. *Molecular Ecology Resources* 9: 1439-1450., 査読有
- ⑰ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R.M., Davies, K., Ye, W., Center, B.J. & Thomas, W.K. (2009). *Teratodiplogaster fignewmani* gen. nov., sp. nov. (Nematoda: Diplogastridae) from the syconia of *Ficus racemosa* in Australia. *Zoological Science* 26: 569-578., 査読有
- ⑱ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R.M., Scheffrahn, R.H. & Center, B.J. (2009). Dauer juveniles of *Poikilolaimus floridensis*. (Rhabditida: Rhabditidae) isolated from drywood termites (Kalotermitidae). *Nematropica* 39: 287-292 (Scientific Note), 査読有
- ⑲ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R.M., Scheffrahn, R.H., Center, B.J. & Davies, K.A. (2009). *Pseudaphelenchus yukiae* n. gen., n. sp. (Tylenchina: Aphelenchidae) associated with *Cylindrotermes macrognathus* (Termitidae: Termitinae) in La Selva, Costa Rica. *Nematology* 11: 869-881., 査読有
- ⑳ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R.M., Zeng, Y., Ye, W., Center, B.J. & Thomas, W.K. (2009). *Acrostichus puri* n. sp. (Nematoda: Diplogastridae), a phoretic associate of *Augochlora pura mosieri* Cockerell (Hymenoptera: Halictidae). *Nematology* 12: 49-64., 査読有
- [学会発表] (計 5 件)
- ① Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R.M., Scheffrahn, R.H., Taki, H., Esquivel, A., Davies, K.A. & Herre, E.A. "Reverse taxonomy" for elucidating diversity of termite-associated nematodes. The 50th Annual Meeting of Society of Nematologists. 2011. 07. 20. Oregon State University (Corvallis, Oregon, USA)
- ② GIBLIN-DAVIS, R.M., Kanzaki, N., Davies, K. & Center, B.J. The amazing fig-nematodes of Martin et al.: forty years on. The 50th Annual Meeting of Society of Nematologists. 2011. 07. 20. Oregon State University (Corvallis, Oregon, USA)
- ③ Kanzaki, N., Li, H.-F., Lan, Y.-C., Kosaka, H. & GIBLIN-DAVIS, R.M. Termite-associated nematodes in Kenting national park, Taiwan. The 48th Annual Meeting of Society of Nematologists 2009. 08. 18. University of Vermont (Burlington, Vermont, USA)
- ④ Kanzaki, N., GIBLIN-DAVIS, R.M., Herre, E.A. & Center, B.J. Morphological observation of two Panamanian nematodes, *Parasitodiplogaster citrinema* Poinar & Herre, 1991 and *P. popenema* Poinar & Herre, 1991 with a comparison with molecular phylogenetic relationship. The 48th Annual Meeting of Society of Nematologists 2009. 08. 18. University of Vermont (Burlington, Vermont, USA)

⑤Giblin-Davis, R.M., Kanzaki, N., Hazir, C., Hazir, S., Wcislo, W., Ye, W. & Thomas, W.K. Nematode associations with wild bees from global diversity survey. The 48th Annual Meeting of Society of Nematologists 2009. 08. 18. University of Vermont (Burlington , Vermont, USA)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神崎 菜摘 (KANZAKI NATSUMI)

独立行政法人森林総合研究所・森林微生物
研究領域・主任研究員

研究者番号：70435585