

博士学位論文審査報告書

申請者氏名	土田 華鈴		
学位の種類	博士（環境科学）		
論文題目	Helminth of Japanese urodelans: a parasitological approach to the alien species problem and challenges in systematic confusion		
学籍番号	2056002		
学歴	平成 30 年 4 月 1 日	滋賀県立大学大学院環境科学研究所 環境動態学専攻博士前期課程入学	
	令和 2 年 3 月 20 日	同上	修了
	令和 2 年 4 月 1 日	同上	博士後期課程入学
論文審査委員会	委員長	滋賀県立大学環境科学研究所 教授 浦部 美佐子	
	委員	滋賀県立大学環境科学研究所 教授 伴 修平	
	委員	滋賀県立大学環境科学研究所 准教授 細井 祥子	
	委員	京都大学人間・環境学研究科 准教授 西川 完途	

論文の内容の要旨

日本の両生類相は、分子的手法の導入による分類の見直しにより、近年ますますその豊かさと固有性の高さが明らかになっている。しかし、昨今の環境問題により両生類、特に有尾類の個体群の減衰は著しい。本研究は、環境問題の 1 つである外来種問題について、宿主-寄生者関係の搅乱と言う観点からアプローチした。また宿主有尾類の分類の見直しに伴い、その寄生性蠕虫類の種多様性・固有性も再検討が必要である。そこで、有尾類における外来種問題の寄生虫学的評価と、有尾類の寄生虫の分類学的問題の解決をテーマとして、以下に説明する 3 章から成る研究に取り組んだ。

第 1 章では、京都の交雑・外来オオサンショウウオ類の寄生虫相を解明し、外来種移入の影響を寄生虫相から評価することを目的とした。遺伝子鑑定でチュウゴクオオサンショウウオ *Andrias davidianus* またはこれと日本産オオサンショウウオ *A. japonicus* との交雑個体と判別された計 27 個体について、文化庁の許可を得て寄生虫相の調査をした。その結果、*Liolope copulans*、*Amphibiocapillaria tritonispunctata*、*Spiroxys hanzaki*、*Falcaustra* sp. を検出した。未分類の *Falcaustra* sp. 以外の種は在来オオサンショウウオから検出例があり、在来種であると考えられた。つまり、在来寄生虫が交雑・外来オオサンショウウオ個体群を新たな宿主として利用している (=スピルバッック) ことが明らかとなった。スピルバッックは新たな宿主-寄生虫関係の構築により寄生虫の個体群動態を変化させる可能性があり、それにより在来宿主への寄生率が増し、病害リスクを増大させることが懸念された。すなわち、京都の在来オオサンショウウオ個体群は外来オオサンショウウオ移入により、在来寄生虫を介して潜在的リスクの増大を抱えていると示唆された。

第 2 章では、京都・三重のオオサンショウウオ類から得られた Kathianiidae 科線虫

(Cosmocercoidea 上科)を分類し、その系統関係を解明することを目的とした。交雑オオサンショウウオ 29 個体と在来オオサンショウウオ 4 個体について寄生虫相を調査した。その結果、両者の腸管から 3 種の Kathlaniidae 科線虫を検出した。*Falcaustra hanzaki* Tsuchida, Urabe et Nishikawa, 2023 (第 1 章の *Falcaustra* sp. に該当) は、京都のオオサンショウウオ類に広く寄生した。*Urodelnema takanoensis* Tsuchida, Urabe et Nishikawa, 2023 は、京都の高野川の交雫オオサンショウウオからのみ検出された。*Megalobatrachonema nipponicum* は京都と三重の交雫・在来オオサンショウウオから検出された。新種となる *F. hanzaki* と *U. takanoensis* が在来寄生虫かどうかは判断できなかった。分子系統解析により、*Megalobatrachonema* 属は側系統群であることがわかった。また、本属の 2 亜属 (*Megalobatrachonema* 亜属・*Chabaudgolvania* 亜属) は系統関係を反映しておらず、これらの亜属の分類形質は、種レベルの同定形質であることが示唆された。Cosmocercoidea 上科は 3 つのクラスターに区分され、その中で Kathlaniidae 科は 2 つの亜科からなるクラスターに分割された。Kathlaniinae 亜科の種は別上科である Seuratoidea 上科の種とクラスターを形成し、Cruziinae 亜科の種は同一上科の Cosmocercidae 科の種とクラスターを形成した。このような高位分類群レベルでの混乱は、分類体系の抜本的な見直しの必要性を強く示すものである。

第 3 章は、日本産両生類に寄生する *Mesocoelium* 属吸虫の種を明らかにすることを目的とした。*Mesocoelium* 属は世界中の両生爬虫類に寄生するが、成虫の形態的特徴の希薄さから分類学的に課題が多い。日本の両生爬虫類からは本属吸虫が計 8 種記載されているが、近年の総説は *M. brevicaecum* Goto et Ozaki, 1929 と *M. geoemydae* Ozaki, 1936 の 2 種を有効名としている。しかし、本属吸虫の分類形質は論文によって異なり、ホロタイプやパウチャー標本を参照することなしに結論が導かれことが多い。そこで本研究では、国内の様々な両生類と台湾産セダカヘビ類から吸虫を得て調査を行い、また可能な限りホロタイプやパウチャー標本の再観察を行った。その結果、本研究で調査した *Mesocoelium* 属標本は 2 種に分類された。*M. brevicaecum* は多様な両生類に広く寄生した。*M. monas* (Rudolphi, 1819) は、福島と対馬(長崎)のサンショウウオ科に寄生し、台湾産セダカヘビ類からも検出された。また、鹿児島のコギセルガイ類から検出された *Mesocoelium* sp. 1 (Waki et al. 2022) は *M. brevicaecum* と *M. monas* とは別種であることが判明した。形態的に *M. geoemydae* と同定される種は得られなかった。従って、日本には最低 3 種の *Mesocoelium* が分布していると結論した。また、*M. brevicaecum* の COI シーケンスを用いた解析から、本種の遺伝的種内変異は地理的距離と相關があること、脊椎動物宿主への特異性は非常に低いことが示された。

第 1 章と第 2 章では、寄生虫の存在が引き起こす外来種移入のリスクを示した一方、各地域の寄生虫研究の不足が明示された。持続可能な種の保全のため、各地域の寄生虫相の理解や感染状況のモニタリングが必要である。また第 2 章と第 3 章を通じて、寄生虫分類学における様々な課題が提示された。これらの解決のため、分子系統学的研究をさらに進めると共に、形態学の再検討がより重要となると考えられた。

論文の審査結果

論文審査委員会（以下、委員会）は、土田華鈴が提出した学位申請論文が博士（環境科

学) を授与するに値すると判定した。審査過程と審査結果の概要は以下の通りである。

令和4年度第10回環境科学研究科会議において、申請者が提出した学位論文を受け、浦部美佐子教授、伴修平教授、細井祥子准教授、西川完途京都大学准教授を委員とする論文審査委員会の設置が承認された。同委員会において、学位申請論文の査読を行うと共に委員会会議を開催し、学位申請論文の内容を審査した。さらに、学位論文審査報告会において最終試験を実施し、試験終了後、再度委員会を開催し学位申請論文の審査を行った。

本学位申請論文の主部は3つの章からなる。第1章では京都市内の外来種チュウゴクオオサンショウウオおよび本種と日本産オオサンショウウオの交雑個体の寄生虫相を調査した。そして、これらから得られた寄生虫は日本在来のものであり、外来サンショウウオの侵入により在来の寄生虫が新たな宿主を獲得したという重要な知見を得た。第2章では京都府と三重県の交雑オオサンショウウオおよび在来種オオサンショウウオから得られたKathlaniidae科線虫の分類を行い、新種2種を記載し、約80年ぶりの再発見となる1種を再記載した。またこれらを含む分子系統解析により、Kathlaniidae科は単系統ではなく、別上科に分類される種と混じり合った系統を構成することが明らかとなり、この科の分類の抜本的見直しが必要であることを示した。このことは当該学問分野における大変重要な発見である。第3章では、両生爬虫類の寄生虫であるMesocoelium属吸虫について、日本産有尾類から得られた標本を中心に分類学的再検討を行った。そして、日本産両生類のMesocoeliumは2種に分類されることを示し、学名の整理を行った。また、そのうちの1種*M. brevicaecum*について、ミトコンドリアゲノムのCOI遺伝子塩基配列をもとに各地個体群の系統関係を示し、この種の地理的な分布拡大過程についての仮説を提唱した。

これらの研究成果の一部は、以下の論文として公表されている。

Karin Tsuchida, Misako Urabe, Kanto Nishikawa (2021) The first survey for helminths parasitic in hybrid and introduced giant salamanders, genus *Andrias* (Amphibia: Caudata: Cryptobranchidae) in Kyoto, Japan. Current Herpetology 40: 109–119.

Karin Tsuchida, Misako Urabe, Kanto Nishikawa (2023) Two new kathlaniid species (Nematoda: Cosmocercoidea) parasitic in salamanders of the genus *Andrias* (Amphibia: Caudata: Cryptobranchidae). Parasitology International 92: 102693.

これらの結果は、両生類の中でも寄生虫学的研究の不足していた有尾類について、十分なデータに基づきその寄生虫相を明らかにするとともに、数十年に渡って分類学的位置について不明瞭であった日本産Kathlaniidae科線虫、Mesocoelium属吸虫について分子系統解析および形態記載を行ったものとして新規性があり、高く評価できる。また、特別天然記念物であり、学術的に貴重な生物であるオオサンショウウオの生物学に大きく貢献すると考えられる。また、学位論文審査報告会における試問による最終試験も合格と認められた。

以上のことから、論文審査委員会は本論文が博士(環境科学)を授与するに値するものと認めた。