

博士論文

カイヤドリヒラムシ（扁形動物）の宿主利用と生活史特性

東北大学大学院生命科学研究科

生命機能科学専攻 海洋生態行動学分野

藤原 悠太

目次

	頁
第一章 序論.....	1
第二章 夏泊半島におけるカイヤドリヒラムシの宿主利用	
はじめに.....	5
材料と方法	
調査地.....	6
採集と計測.....	6
潜在的宿主巻貝の密度と生態.....	7
統計解析.....	8
結果	
潜在的宿主巻貝の密度と大きさ.....	8
潜在的宿主巻貝の生態.....	9
カイヤドリヒラムシの寄居率と寄居個体数.....	10
考察.....	11

第三章 カイヤドリヒラムシの宿主選択性

はじめに	15
------	----

材料と方法

潜在的宿主巻貝の形態的特徴	16
カイヤドリヒラムシの宿主選択実験	16
統計解析	18

結果

潜在的宿主巻貝の形態的特徴	19
カイヤドリヒラムシの宿主選択	19

考察	21
----	----

第四章 カイヤドリヒラムシの生活史

はじめに	23
------	----

材料と方法

調査地および個体数、個体長の測定	24
カイヤドリヒラムシの餌資源	26
カイヤドリヒラムシの繁殖	26
統計解析	27

結果

餌資源	28
宿主の密度と寄居率	28
カイヤドリヒラムシの個体長、および密度	28
カイヤドリヒラムシの繁殖	29
考察	
カイヤドリヒラムシの生活史と餌資源	30
生息地とカイヤドリヒラムシの生活史特性	31
第五章 カイヤドリヒラムシの繁殖生態	
はじめに	35
材料と方法	
実験材料	36
産卵実験	37
カイヤドリヒラムシの卵への巻貝の影響	39
カイヤドリヒラムシの卵板への乾燥刺激	39
統計解析	39
結果	
カイヤドリヒラムシの産卵	40
巻貝および乾燥が卵へ与える影響	42
考察	43

第六章 総合討論

扁形動物の研究	46
カイヤドリヒラムシの生活史	48
宿主の識別	50
種間関係の形成	52
摘要	55
謝辞	59
引用文献	60
図一覧	67
表一覧	70
図表	72

第 1 章

序論

あらゆる生物は、同種または異種の生物と様々な相互作用をもちながら生きている。中には他の生物との関わり合いを強め、共生や片利共生、あるいは寄生といった他の生物に、または互いに依存することで存在している種もいる。このような寄生や共生といった関係は自由生活種が特定の生物種と関係を強めながら新たに獲得してきた生活様式であると考えられる。また、寄生種や共生種が特定の宿主との関係を強めることは新たな種を生じることにつながり、地球上の種多様性を増大させてきたと考えられている (Summers et al. 2003)。それ故、宿主とその利用者の関係が形成・成立してきたメカニズムを解明することは進化生態学のきわめて重要な課題である。

これまで、イソギンチャクとクマノミ (Mariscal 1970; Fautin 1991; Holbrook and Schmitt 2005) やイソギンチャクとヤドカリ (Ross and Sutton 1960, 1961; Brooks 1988) のような宿主と利用者との密接な関係について多くの研究がされてきた。しかし、これら利用者がなぜ特定の宿主種と関係を持つようになったか、またそのような種特異的な相互作用がどのように生じ、発達してきたのかは明らかにされていない。どのようにして寄生や共生における宿主と利用者の特異的な関係が発達したのかを知るためには、いくつかの異なる宿主種を利用し、かつ潜在的宿主の間に偏った選択性を示す利用者を研究することが 1 つの有効なアプローチになると考えられる。すなわち、利用者にとって好ましい宿主種の形態・生理・行動、および生態学的な特性を解明することで、特定の宿主種との共生関係を引き起こしてきた生態学的な原因と進化のプロセスを理解できる可能性がある。

日本の北海道から九州にかけて分布している扁形動物門渦虫綱多岐腸目の一種カイヤドリヒラムシ *Stylochoplana pusilla* は潮間帯で見られる巻貝の外套腔に棲んでおり、

主にイシダタミガイ *Monodonta labio* を主要な宿主としている (Kato 1933, 1965)。
他にクマノコガイ *Chlorostoma xanthostigma* やイボニシ *Thais clavigera*、ヘソアキク
ボガイ *Chlorostoma turbinatum* など他の巻貝の中でも見つかった (Kato 1933)。
しかしながら、カイヤドリヒラムシが巻貝の中で何をしているか、換言すれば、なぜ巻
貝の中に生息しているかは明らかにされていない。宿主との関係が寄生か共生なのかは
明らかでないため、本研究ではカイヤドリヒラムシが巻貝の中にいることを寄居と表現
している。カイヤドリヒラムシと宿主巻貝との関係が 1 種対 1 種の種特異的な (宿主—
利用者) の関係ではないという事実は、潜在的宿主巻貝間における寄居率や寄居個体数
などの宿主—利用者の関係の違いを解明することで、利用者の宿主選択に関する情報、
すなわち潜在的宿主巻貝のもつどのような生物学的要因が宿主選択に影響を及ぼして
いるのかを明らかにできる良い実験対象であることを示唆している。

カイヤドリヒラムシが属する扁形動物門渦虫綱多岐腸目は海産であり、日本をはじめ
世界中で多くの種類が見られる。その大半が海底の砂泥、岩礁、転石の上などを這って
自由生活をしている (Jennings 1971, Newman and Cannon 2003)。多岐腸類の一部
はカサガイや牡蠣など貝類の捕食者として知られ (Galleni et al. 1980; Heath and
MacGregor 1912; Littlewood and Marsbe 1990; MacGinitie and MacGinitie 1968)、
日本国内でもスチロヒラムシの 1 種 *Stylochus* sp. がイワガキ *Crassostrea nippona* を食
害することが知られており (田中・藤原 2000)、水産学上も重要なグループである。
しかしながら、その生態学的な研究はほとんどおこなわれていない。

また、扁形動物の仲間、例えばプラナリアに代表される三岐腸類やウスヒラムシなど
の多岐腸類は分類や形態的研究 (Kato 1944; Kaburaki 1923; Hagiya and Gamo 1992)
の他、螺旋卵割のモデル動物として、発生学の材料として用いられている (石田 1998;
石田・手代木 1988; 櫻井ら 1998; Martin-Duran and Egger 2012)。これらモデル生
物として調べられているヒラムシ類の中には初期発生のみならず、飼育下で 1 世代の全

生活史を観察された例もある（出口ら 2009）。このようにヒラムシ類では発生に関する情報は蓄積されているものの、生態学的な知見の報告は少ない。その理由は孵化した幼個体が底生期に移る時の体長が 1mm にも満たず、底生期後の幼個体を野外で見いだすことが極めて困難なためであろう。

本研究では巻貝に寄居するという特異的な習性を持っているカイヤドリヒラムシを対象にする。本種は、生息場所が巻貝に限定されるので、幼個体から繁殖に至るまでの生活史を野外で追跡するのに適している。このような特異性を利用して、カイヤドリヒラムシの生態学的な特性を本研究では解明した。

まず、第 2 章では、カイヤドリヒラムシが利用している潜在的宿主巻貝の罹患率、あるいは彼らに寄居している個体数を比較し、宿主選択性を調べた。また、潮間帯に生息するイシダミガイを主要な宿主として利用するようになった理由を明らかにするために、潜在的宿主巻貝の生態学的な特徴、および生息環境の違いと罹患率・寄居個体数との関係を調べた。

次いで、第 3 章では、カイヤドリヒラムシが野外においてイシダミガイを主要な宿主として利用している理由について、カイヤドリヒラムシの寄居空間に関わる宿主の形態的な特徴の違いについて調べ、潜在的宿主巻貝の形態とカイヤドリヒラムシの宿主の選択性の関係を実験的に解明した。

さらに第 4 章では、本種の野外での生活史を明らかにし、宿主の生息環境がカイヤドリヒラムシの個体群動態に与える影響を調べた。具体的には、利用者と宿主についての適応度に関与する、生活史特性を解明することで利用者の宿主への依存度を評価した。さらに、生息環境の違いと個体群動態との関係を解析することで、カイヤドリヒラムシの生息に適した環境を明らかにし、宿主巻貝と共生関係を深めた進化的経緯を推定した。

第 5 章では、野外におけるカイヤドリヒラムシの産卵条件を明らかにするための飼育実験をおこなった。親の産卵場所選択は生物・非生物的要因によって左右され、産卵場

所は生まれる子の生残や初期成長に大きく影響する (Thompson 1988)。カイヤドリヒラムシがどこでどのように産卵しているかを調べることで、カイヤドリヒラムシの産卵から死滅までの生活史を明らかにした。

第 6 章では、扁形動物、主に他の生物と関係をもつ多岐腸類における研究をまとめ、生活史、宿主識別、種間関係の形成について考察した。

第2章

夏泊半島におけるカイヤドリヒラムシの宿主利用

はじめに

扁形動物門渦虫綱多岐腸目の仲間は海産であり、日本をはじめ世界中で多くの種が見られる。その大半が砂泥質の海底や岩礁、転石の上などを這って自由生活をしているが (Jennings 1971, Newman and Cannon 2003)、一部は他の生物との関わりを強め、寄生・共生生活者になったと考えられている (Rohde 1994)。ヤドカリ (Prudhoe 1968; Jennings 1971; Lytwyn and McDermott 1976) や巻貝 (Kato 1933, 1935, 1944; Faubel et al. 2007) など他の生物と寄生や共生関係を持つ種も知られている。しかし、他の生物と寄生や共生関係をもつ多岐腸類に関するこれまでの研究は分類・形態学的研究に留まり、生態学的な研究は断片的に行われてきたのが現状である。日本の北海道から九州にかけて分布しているカイヤドリヒラムシ *Stylochoplana pusilla* は潮間帯の巻貝の外套腔に棲んでおり、主にイシダタミガイ *Monodonta labio* でよく見られるとされている (Kato 1933, 1965)。他にクマノコガイ *Chlorostoma xanthostigma* やイボニシ *Thais clavigera*、ヘソアキクボガイ *Chlorostoma turbinatum* など他の巻貝の中でも見られている (Kato 1933)。

このように、カイヤドリヒラムシにおいては宿主と利用者の関係は種特異的なものではないため、潜在的宿主巻貝間における寄居率や寄居個体数などの違いを解明することで、潜在的宿主巻貝のもつどのような要因がカイヤドリヒラムシの宿主選択に影響を及ぼしているのかを明らかにすることができると考えられる。

本章では青森県陸奥湾の夏泊半島において、潜在的宿主巻貝の生息環境と、カイヤドリヒラムシの宿主利用との関係について調べた。また、宿主巻貝の生態的違いを明らか

にするために、野外で巻貝の行動を観察した。

材料と方法

調査地

潜在的宿主巻貝とカイヤドリヒラムシとの関係を調べるために夏泊半島の潮間帯の 10 か所で調査・採集をおこなった (Fig. 2-1)。調査海岸は大きく 4 つの環境に分けられた (Table 2-1): 砂質の基底上に 1 層または 2-3 層の石がのっている転石 (B1, B2, B3) (Fig. 2-2 B)、基底が岩盤である岩礁 (R1, R2) (Fig. 2-2 R)、岩盤の上に石が乗っている岩礁転石 (BR1, BR2) (Fig. 2-2 BR)、干潮時に岩盤上にできたくぼみ (深さ約 10 cm) に海水が残る潮溜まり (TP1, TP2, TP3) (Fig. 2-2 TP)。転石と岩礁転石では石の長径を測定した (Table 2-1)。これらの調査地では、潜在的宿主巻貝の他、以下の底生生物が見られた。B1 では、扁形動物である、ウスヒラムシ *Notoplana humilis* とナツドマリヒラムシ *Pseudostylochus intermedius* がみられた。R1 では、二枚貝のムラサキインコガイ *Septifer virgatus* とシロスジフジツボ *Balanusal albicostatus* がみられた。R2 では、ムラサキインコガイがみられた。BR1 では、ウスヒラムシとナツドマリヒラムシがみられた。BR2 では、ホンヤドカリ類 *Pagurus spp.* が多くみられ、岩盤の窪みにはミドリイソギンチャク *Anthbopleura fuscoviridis* もいくつかみられた他に、ナツドマリヒラムシもみられた。TP2 では、シロスジフジツボ、ミドリイソギンチャク、ウスヒラムシとナツドマリヒラムシがみられた。TP3 ではミドリイソギンチャクがみられた

採集と計測

2010 年 5-6 月の大潮の最干潮時に採集・調査をおこなった。50cm×50cm のコドラ

ートを各調査地内にランダムに3ヶ所設置し、その中にいたすべての潜在的宿主巻貝を採集し、個別に袋に入れた。潮溜まりでは、水の溜まった凹部を含むようにコドラートを設置した。

採集したすべての巻貝は東北大学大学院生命科学研究科附属浅虫海洋生物学教育研究センターに持ち帰り、殻径をノギスで測定した後、軟体部を傷つけないように注意しながらハンマーで貝殻を割り、貝殻および軟体部を海水でみたしたシャーレの中に入れ、貝に寄居していたカイヤドリヒラムシの個体数を調査した。また、得られたカイヤドリヒラムシを0.35M MgCl₂海水に入れ麻酔処理をして（出口ら 2009）、十分に弛緩させた後に体長を（前端から後端までの長さ）実体顕微鏡下で0.1 mmまで測定した。

潜在的宿主巻貝の生態

カイヤドリヒラムシの寄居に与える影響を明らかにするために潜在的宿主巻貝の垂直分布を2010年の6-7月において干潮時に調べた。イシダタミガイに関しては、調査地TP1で観察した。それぞれの個体の付着位置を、水の中、水際の濡れたところ、あるいは干上がったところに分けて、また蓋を閉じているのかどうかを調べた。さらに、イシダタミガイを中心に50 cm×50 cmのコドラートをおき、コドラート内の潮だまりの海水面の割合を測定した。タマキビガイにおいても同様に付着位置および蓋を閉じているのかどうかの調査をおこなった。

さらに、イシダタミガイおよび潮間帯でよく見られる潜在的宿主巻貝ヘソアキクボガイ、コシダカガンガラ、そしてタマキビガイの3種について2つの突堤で調査をおこなった（突堤1：40°54'13.2"N; 140°51'28.1"E、突堤2：40°54'10.4"N; 140°51'28.1"E）。突堤の垂直な面上では汀線の位置と潜在的宿主巻貝の位置関係が明瞭に把握できる。突堤において、干潮時に各潜在的宿主巻貝の付着位置（水の中（above）、水際（at）、干上がったところ（below））を記録した。また、同時に蓋が開いていたかどうかを観察し

た。イシダタミガイとタマキビガイの調査は 2011 年 7 月に突堤 1 で、ヘソアキクボガイおよびコシダカガンガラの調査は 2011 年 10 月に突堤 1、さらに 2011 年 7 月に突堤 2 でそれぞれおこなった。

さらに、カイヤドリヒラムシの主要な宿主と考えられるイシダタミガイの垂直分布と潮汐周期の関係を明らかにするために、2011 年 8 月に突堤 1 で以下の調査をおこなった。最干潮時から満潮にかけて、30 分おきに海水面の相対高を計測し、汀線より上、汀線付近、汀線よりも下の壁面にいるイシダタミガイの個体数を記録した。

統計解析

10 カ所の各調査地間におけるイシダタミガイの密度・殻径、およびカイヤドリヒラムシの寄居率・寄居個体数の違いを明らかにするために、ANOVA による解析をおこなった。ANOVA により違いが見られた場合、環境ごとに Tukey's multiple comparison をおこなった。これらの統計処理はすべて R ver. 2.15.1 (R Development Core Team, 2005)を用いておこなった。

結果

潜在的宿主巻貝の密度と大きさ

この調査では、6 種類の潜在的宿主巻貝が得られた。原始腹足目ニシキウズガイ科 Trochidae に属する、イシダタミガイ *Monodonta labio confusa* クロヅケガイ *Monodonta neritoides*、ヘソアキクボガイ *Chlorostoma turbinata*、コシダカガンガラ *Omphalius rusticus*、同じくリュウテンサザエ科 Turbinidae のスガイ *Turbo coreensis*、中腹足目タマキビガイ科 Littorinidae のタマキビガイ *Littorina brevicula* である (Fig. 2-3)。

これら 6 種の潜在的宿主巻貝の中で、イシダタミガイはどの環境においても見られ、その密度には、各調査地間で有意な差は見られなかった (ANOVA: $F_{9, 20} = 0.792$, $P = 0.5870$; Table 2-2)。イシダタミガイの殻径は、調査地 B2 で 10 mm 以下の個体が多くみられ、その他の調査地においても 15-18 mm の個体が見られた (Table 2-3)。調査地 10 地点でのイシダタミガイの平均殻径には有意な差が見られ (ANOVA: $F_{9, 20} = 27.400$, $P < 0.0001$)、環境ごとに見ると、転石と岩礁の間、また岩礁転石と潮だまりの間以外の組み合わせにおいて、殻径は有意に異なっていた (Tukey's multiple comparison test, $P < 0.05$)。

ヘソアキクボガイ、コシダカガンガラ、スガイおよびタマキビガイは 10 カ所の調査地のうち、5 カ所以上で見られた (Table 2-2)。クロヅケガイは調査地 B2 でのみ見られた。イシダタミガイと比較すると、ヘソアキクボガイ、コシダカガンガラおよびスガイは大きく、タマキビガイとクロヅケガイは小さかった (Table 2-3)。

潜在的宿主巻貝の生態

最干潮時、イシダタミガイには蓋を閉じている個体はいなかった (Table 2-4)。潮だまりでは、干出している面積がコドラートの 37.3 ± 20.4 (SD) % を占めていたが、ほとんどの個体が水中にいた。一方、突堤では 2 割ほどの個体が汀線より下で見られ、ほとんどの個体が干出していた (Table 2-4)。これらのことから、イシダタミガイは干潮時に水が残っているかどうかにより、行動が変わることが示された。

ヘソアキクボガイおよびコシダカガンガラには蓋を閉じている個体はなく、腹足で突堤の壁面に付着していた。汀線よりも上にいる個体はなく、全ての個体が汀線よりも下で見られた (Table 2-4)。一方、タマキビガイは、突堤では全ての個体が蓋を閉じており、汀線よりも上の干上がった壁面に粘液で付着していた。タマキビガイは潮だまりでもすべての個体が蓋を閉じており、突堤と同じく、ほとんどの個体が干上がった岩盤上

に見られた (Table 2-4)。

突堤でおこなったイシダタミガイの生態分布調査では、最干潮時にはほとんどの個体が汀線よりも上の干出した場所にいた。最干潮の 2 時間後、汀線が最干潮時から 25 cm ほど上がるとすべての個体が冠水したことから、干潮時には潮間帯で休止することが明らかになった。さらに、最満潮時から海面が下がり始めると汀線付近にいくつかの個体がみられるようになった (Fig. 2-4)。このことは、上げ潮とともにイシダタミガイも上昇していることを示す。このように、イシダタミガイは、下げ潮時には汀線とともに下がり、干潮時には干出する場所で休止し、上げ潮により冠水すると活動を開始し、汀線の移動とともに潮間帯内で上下移動していることがわかった。

カイヤドリヒラムシの寄居率と寄居個体数

カイヤドリヒラムシによる各潜在的宿主巻貝の寄居率は、イシダタミガイで 82.6%、ヘソアキクボガイで 42%、コシダカガンガラで 15.4%、クロヅケガイ・スガイ・タマキビガイでは 0%であった (Table 2-5)。また、得られた全てのカイヤドリヒラムシの中で各種潜在的宿主巻貝に寄居していた個体の割合は、イシダタミガイで 92.6%、ヘソアキクボガイで 6.4%、コシダカガンガラで 1%であった (Table 2-5)。

カイヤドリヒラムシの寄居率はイシダタミガイの殻径が大きくなるほど高くなる傾向が見られた (Fig. 2-5)。殻径が 12 mm 以下のイシダタミガイが多く見られた調査地 B2 では、それらはカイヤドリヒラムシにほとんど利用されていなかったが、それよりも大きいイシダタミガイでは寄居がみられた。

さらに、イシダタミガイの生息環境とカイヤドリヒラムシの寄居率との関係調べるために、カイヤドリヒラムシが宿主として利用している 12 mm 以上の大きさのイシダタミガイを対象に ANOVA による解析をおこなったところ、4 つの環境間で寄居率が有意に違うことが分かった (ANOVA: $F_{3,26} = 11.7400$, $P < 0.01$)。寄居率は岩礁転石と潮だま

りにおいて、転石よりも高いことがわかった (Tukey's multiple comparison test, $P < 0.001$)。

イシダタミガイの殻径と寄居していたカイヤドリヒラムシの平均個体数との間には、有意な相関関係は見られなかった (Fig. 2-5)。しかし、4つの環境間におけるカイヤドリヒラムシの寄居個体数には有意な違いが見られた (ANOVA: $F_{3, 335} = 13.0600$, $P < 0.0001$)。さらに、Tukey's multiple comparison による解析では、他の3つの環境と比較して潮だまりで寄居個体数が有意に多いという結果が得られた ($P < 0.05$) (Fig. 2-6)。同じ環境内においても、カイヤドリヒラムシの寄居個体数に違いは見られ、岩礁転石では湿り気の強いBR2では水はけのよいBR1に比べて2倍ほど多くのカイヤドリヒラムシの寄居個体が見られた (Fig. 2-6)。

考察

今回の調査結果から、青森県陸奥湾ではカイヤドリヒラムシは主にイシダタミガイを宿主として利用していることがわかった。特に、カイヤドリヒラムシは12mm以上の殻径をもつイシダタミガイの軟体部と外套膜の間で主に見られ、12mm未満のイシダタミガイはほとんど利用されていなかった。

また、イシダタミガイは干潮時、活動していないにもかかわらず、蓋を開けて腹足で壁面に付着しており、干出した場所に多く見られた。それらの個体は上げ潮により冠水すると上げ潮と共に上昇し、下げ潮と共に下降した。このように、イシダタミガイは通常干潮線と満潮線の間、つまり潮間帯に生息していた。一方、タマキビガイはほとんどの個体が蓋を閉じており、汀線よりも上の干上がった場所で主に見られたので、汀線よりも上、つまり潮上帯で活動していた。ヘソアキクボガイとコシダカガンガラは、干潮時、蓋を開けており、すべての個体が汀線よりも下で見られた。ヘソアキクボガイとコ

シダカガンガラは上げ潮により潮間帯にまで進出して摂餌をし、干潮時には潮下帯に戻った。転石や岩礁転石では、ヘソアキクボガイやコシダカガンガラは干潮時には転石の下や岩盤の隙間で多く見られた。このような場所は、干潮時にも湿っており、乾燥が防げると考えられる。それ故、ヘソアキクボガイとコシダカガンガラは通常、汀線の下である潮下帯にいるのだろう。これらのことを踏まえて大きく捉えると、タマキビガイは潮上帯、イシダタミガイは潮間帯、ヘソアキクボガイとコシダカガンガラは潮下帯に生息すると考えられ、このような巻貝間の生態的特徴の違いがイシダタミガイに対するカイヤドリヒラムシの宿主選好性に関わっているのかもしれない。

なお、カイヤドリヒラムシは、潮下帯に生息するハゼの 1 種や転石の下などで自由生活をしている大型の多岐腸類であるウスヒラムシに捕食されることが観察された。一般に、より安定した環境である潮下帯は捕食圧が高い。海洋生物が海から半陸上の潮間帯へ進出する要因の一つとして捕食からの回避が考えられている (Connell 1972; Menge and Branch 2001; Perez et al. 2009)。多岐腸類は体の外側に硬い殻などを持たず、大半が海底の砂泥の中や転石の下など、乾燥することのない場所で自由生活をしている (Sreeraj and Raghunathan 2013)。実際にカイヤドリヒラムシを水から出すと、数分で死んでしまうことが観察された。そのため、カイヤドリヒラムシが潮間帯を新たな生息地として利用する場合、乾燥から身を守る必要がある。イシダタミガイやヘソアキクボガイなど水生の巻貝は鰓呼吸をしており、殻内に水分を保持しているため (Houlihan et al. 1981)、カイヤドリヒラムシが巻貝の殻内へと入り込むことができれば干潮時にも直接乾燥にさらされることはなくなる。潮間帯において、特に干潮時にはイシダタミガイの外套腔内はカイヤドリヒラムシにとって乾燥から身を守ることができる環境であると考えられる。

カイヤドリヒラムシの宿主は主にイシダタミガイであったが、同じイシダタミガイでも調査地点の環境によって宿主 1 個体に寄居していたカイヤドリヒラムシの個体数に

は大きな違いがみられた。すなわち、干潮時にも海水が残る潮だまりに生息していたイシダタミガイでより多くの寄居個体がみられた。また、岩礁転石の環境下においても、地点 BR1 に比べて BR2 でカイヤドリヒラムシの寄居個体数が 2 倍近く多くなっていた。地点 BR1 は干潮時に水がはけてしまうのに対して、BR2 では乾燥や干出を避けて生息しているイソギンチャクやヘソアキクボガイがみられ、干出の程度が穏やかで干潮時にも完全に干上がることは無い。これらの結果は、潮間帯の中でも干潮時の水の有無、あるいは干出の程度がカイヤドリヒラムシの寄居にもっとも影響を与えている要因であることを示唆している。

多岐腸類の大半は自由生活をしているが (Jennings 1971)、ヤドカリ (Prudhoe 1968; Jennings 1971; Lytwyn and McDermott 1976) や巻貝 (Kato 1933, 1935, 1944; Faubel et al. 2007) など他の生物と共生関係を持つ種もこれまで報告されている。例えば、*Paraprostatum echinolittorinae* は巻貝の *Echinolittorina modesta*、*E. conspersa*、*E. apicina*、*E. tenuistriata* の他に *Scurria mesoleuca* の外套腔の中で見つかった (Faubel et al. 2007)。*Hoploplana inquilina* は巻貝の *Busycotypus canaliculatus*、*Urosalpinx cinerea* や *Stramonita haemastoma* の鰓腔の中に生息している (Wheeler 1894; Schlechter 1943; Hyman 1967)。*Notocomplana paellarum* と *Stylochoplana parasitica* はカサガイの一種 Patellidae sp. (Branch and Branch 1981) や、ヒザラガイの 1 種 *Acanthopleura japonica* の外套腔の中に生息していることが分かっている (Kato 1935a)。これらの扁形動物が利用している宿主腹足類は主に潮間帯から潮下帯上部に生息している。

また、*Emprostopharynx rasae* はヤドカリ *Calcinus latens* の貝殻の中に見られる (Prudhoe 1968)。しかし、同じ種の巻貝の貝殻を利用している他の種のヤドカリ *Calcinus laevimanus* と *Clibanarius zebra* (Reese 1968) の貝殻内には見られないと報告されている (Prudhoe 1968)。これらのヤドカリは異なる生息環境を持っており、

C. latens は潮下帯上部に生息している。一方、*C. laevimanus* は 潮間帯から潮上帯にかけて、また *C. zebra* は潮上帯に生息している (Reese 1968)。これらの観察から、Jennings (1971) は 3 種のヤドカリの生息環境の違いが *E. rasae* の宿主利用に関係していると考えた。

多岐腸類の 1 種 *Stylochus zebra* もヤドカリの *Pagurus pollicaris*、*Pagurus impressus* や *Petrochirus diogenes* の貝殻内に生息している (Lytwyn and McDermott 1976)。しかし、同じヤドカリの *Clibanarius vittatus* と *Pagurus longicarpus* は宿主として利用されない。*P. pollicaris*、*P. impressus* と *P. diogenes* は潮下帯に生息しているが、*C. vittatus* と *P. longicarpus* は潮間帯に生息している。このように扁形動物と宿主となる生物の間には、宿主の生息環境の違いが強く働いていることが示唆されている。

カイヤドリヒラムシは巻貝の中から見つかったが、その中でもイシダタミガイにおいて特に多く見られた。しかしながら、潮下帯に生息しているヘソアキクボガイとコシダカガンガラは、乾燥にさらされることのない環境にいるにも関わらずカイヤドリヒラムシの主要な宿主ではなかった。このことはカイヤドリヒラムシが潮下帯において巻貝の中に住み着く習性を獲得したのではないことを示唆している。自由生活を営む種が、他の生物と関係を持ち、宿主となる生物と生活することで、捕食の回避や生息環境の安定性など様々な利点を得ているということが知られている (Poulin 2007)。イシダタミガイとヘソアキクボガイ、およびコシダカガンガラの間に宿主としての大きな形態的な違いはない、したがってカイヤドリヒラムシが潮間帯へ進出出来たのは、捕食の回避や乾燥を避けるために干潮時にも潮間帯にとどまっているイシダタミガイを利用するようになったためであろう。

第3章

カイヤドリヒラムシの宿主選択性

はじめに

寄生や共生の関係にある種においては、利用者は特定の宿主を利用し、種特異的な関係を持っていることがしばしば報告されている (Fautin 1991, Dalby 1996)。共生関係にあるクマノミとイソギンチャクにおいては、複数種のクマノミ *Amphiprion* spp.においてそれぞれ宿主イソギンチャクの化学物質により特定の種を選択していることが示されている (Elliott et al. 1995; Miyagawa et al. 2014)。また、ウニ *Tripneustes gratilla* を宿主として利用するエビの1種 *Gnathophyllodes mineri* においても、宿主となる特定のウニの視覚的な刺激と化学物質により選択し利用していることが分かっている (Williamson et al. 2012)。様々な種の生物が同所的に存在する野外において、寄生や共生関係にある種では、利用者は宿主から得られるさまざまな情報をもとに宿主を見つけていると考えられる。

第2章では、青森県夏泊半島においては、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイを主要な宿主として利用していることが明らかになった。しかし、ヘソアキクボガイやコシダカガンガラはあまり利用されず、タマキビガイは全く利用されていなかった。これらのことは、カイヤドリヒラムシは野外においてイシダタミガイと他の潜在的宿主巻貝を識別し、利用していることを示唆している。

そこで本章では、カイヤドリヒラムシの宿主選択性について実験をおこなった。具体的には、実験室内において潜在的宿主巻貝各種を組み合わせた選択実験をおこない、カイヤドリヒラムシが潜在的宿主巻貝からイシダタミガイを識別しているのかどうかを

調べた。また、潜在的宿主巻貝間における寄居率や寄居個体数の偏りが潜在的宿主巻貝の形態的な違いに起因しているのかどうかを明らかにするために、カイヤドリヒラムシに生息空間を提供している潜在的宿主巻貝の外套膜の長さを比較した。

材料と方法

潜在的宿主巻貝の形態的特徴

カイヤドリヒラムシは主に巻貝の頭部を覆っている外套膜と軟体部の隙間（外套腔）に見られた。そのため宿主の外套膜の大きさはカイヤドリヒラムシの寄居に大きな影響を及ぼしていると考えられる。そこで潜在的宿主巻貝であるイシダタミガイ・ヘソアキクボガイ・コシダカガンガラ・タマキビガイの4種において頭部を覆う外套膜の長さを測定した。これら潜在的宿主巻貝は東北大学浅虫海洋生物学教育研究センターの突堤付近（40°54'10.4"N; 140°51'28.1"E）において、ランダムに採集した。採集した巻貝は殻径をノギスで測定し、次いで 0.35M MgCl_2 海水に入れ麻酔処理をした。十分に麻酔が効いた後に、ハンマーで貝殻を割り、軟体部を傷つけないように取り出した。これら個体について頭部を覆っている外套膜の先端から外套膜がめくれる限界（軟体部に外套膜が接着しているところ）までをノギスで測定した。

カイヤドリヒラムシの宿主選択実験

カイヤドリヒラムシが宿主を識別しているか否かを明らかにするために、潮間帯で見られる潜在的宿主巻貝、イシダタミガイ、ヘソアキクボガイ、コシダカガンガラ、タマキビガイの4種を用いてカイヤドリヒラムシの宿主選択実験を2011年4月-5月におこなった。実験には3-4 mm程の大きさのカイヤドリヒラムシを用いた。これらカイヤドリヒラムシは宿主巻貝の殻径をノギスで測定した後に、0.35M MgCl_2 海水に入れ麻酔処

理をし、弛緩した外套膜および軟体部をピペッティングすることで内部にいるカイヤドリヒラムシを取り除いてから実験に用いた。

実験にあたっては、まずプラスチックの容器（9 cm×6 cm×4.5 cm 高さ）に海水を満たし、カイヤドリヒラムシを 10 匹入れた。次に殻径が同じ大きさ（約 16mm）のイシダタミガイとヘソアキクボガイを 1 個体ずつ容器の中に入れ、あらかじめ中央部を切り取り、プランクトンネット（目合 0.335 mm）を張り付けた蓋をした。そして、容器内の海水の酸素が欠乏しないように、またこの容器が干出しないように海水を満たしたより大きな容器の中に沈め、20℃暗条件下の恒温機の中においた。24 時間後、カイヤドリヒラムシがどちらの宿主巻貝に入っているのかを調べた。同様の実験をイシダタミガイとコシダカガンガラ、イシダタミガイとタマキビガイの組み合わせで、実験ごとに宿主巻貝とカイヤドリヒラムシを変えて 5 回おこなった。

上記実験では潜在的宿主巻貝が自由に容器の中を動き回り、その移動頻度の違い（Lam 2002）がカイヤドリヒラムシの寄居に影響を及ぼす可能性がある。この違いの影響を排除するために、生きている各種巻貝の貝殻の背面を、プラスチックの容器の底にシリコンボンドで接着して宿主を固定した後に、カイヤドリヒラムシを 10 匹投入し、カイヤドリヒラムシがどちらの宿主巻貝を選択するのかどうかを調べた。実験は 2011 年 5・6 月にイシダタミガイとヘソアキクボガイ、イシダタミガイとコシダカガンガラ、およびイシダタミガイとタマキビガイの組み合わせで、宿主巻貝とカイヤドリヒラムシを変えてそれぞれ 5 回おこなった。

カイヤドリヒラムシの宿主選択性が宿主巻貝の外套膜の長さに影響されているか否かを明らかにするために、イシダタミガイとヘソアキクボガイ、イシダタミガイとコシダカガンガラの組み合わせで、外套膜の長さが等しくなるように宿主巻貝の大きさを選別して、上記と同じ実験を行った。外套膜の長さは殻径と外套膜の関係式から推定した（Fig3-1 を参照）。この実験は 2011 年 7-8 月にいずれの組み合わせでも 5 回ずつおこ

なわれた。

最後に、カイヤドリヒラムシがどのようにして宿主巻貝を識別しているのかを明らかにするため以下の実験を 2011 年 8 月におこなった。すなわち、プランクトンネット（目合 0.335 mm）で作ったキューブ（約 2 cm×2 cm）の中に生きたイシダタミガイを入れ、容器（9 cm×6 cm×4.5 cm 高さ）の底にこのキューブをシリコンボンドで固定した。次に、海水を満たし、カイヤドリヒラムシ 10 匹を入れて、20℃暗条件下の恒温機の中におき、24 時間後にカイヤドリヒラムシの分布を観察した。この実験ではキューブにカイヤドリヒラムシが接していた場合をキューブに集まったものと定義した。対照実験として、イシダタミガイを入れないキューブを用いた実験もおこなった。これら実験はいずれもそれぞれ 5 回ずつおこなわれた。

統計解析

各潜在的宿主巻貝の殻径と外套膜の長さの関係を調べるために単回帰分析をおこなった。各潜在的宿主巻貝の回帰直線の違いは ANCOVA を用いて検定された。また、宿主の選択実験における、種間での外套腔に入り込んだカイヤドリヒラムシの数の違いは paired *t*-test で解析した。この選択実験においては、いずれの巻貝の組み合わせでも別々の巻貝個体を利用した。したがって *t*-test は実験区間において独立しておこなった。イシダタミガイを固定した場合としていない場合とでの、カイヤドリヒラムシの寄居数に違いは、ANOVA により解析をした。これらの統計解析は全て、R ver 2.15.1（R Development Core Team 2005）を利用しておこなった。

結果

潜在的宿主巻貝の形態的特徴

潜在的宿主巻貝各種において殻径に対する外套膜の長さは、いずれも強い相関を示した (Fig. 3-1)。また、これら 4 種の巻貝の回帰直線の間には有意な違いが見られた (ANCOVA: $F_{3, 107} = 22.1410$, $P = 0.0417$)。イシダタミガイとタマキビガイの間には、殻径に対する外套膜の回帰式の切片に有意な違いが見られた ($F_{1, 37} = 9.7182$, $P = 0.0073$) が、傾きに差は見られなかった ($F_{1, 36} = 0.8919$, $P = 0.3513$)。一方、イシダタミガイとヘソアキクボガイ、あるいはコシダカガンガラの間においては回帰直線の傾きに違いが見られた (ヘソアキクボガイ: $F_{1, 59} = 8.648$, $P = 0.004$; コシダカガンガラ: $F_{1, 54} = 6.387$, $P = 0.007$)。これら巻貝の外套膜の長さは、同じ殻径を持つ個体の間ではイシダタミガイで最も大きく、タマキビガイで最も小さかった。ヘソアキクボガイとコシダカガンガラは同じくらいであったが、イシダタミガイよりは短かった。しかしながら、殻径がイシダタミガイよりも大きいため絶対的な外套膜の長さはイシダタミガイよりも大きくなる個体もいた (Fig. 3-1)。

カイヤドリヒラムシの宿主選択

巻貝が自由に移動できる条件下において、カイヤドリヒラムシの 90% 以上が巻貝に寄居していた。なお、この実験の際、カイヤドリヒラムシが入っている容器に巻貝を入れても、カイヤドリヒラムシはすぐに活発に動き始めることはなかった。イシダタミガイと、どの巻貝との組み合わせにおいてもカイヤドリヒラムシはイシダタミガイに多く寄居した (paired t -test; イシダタミガイ vs. ヘソアキクボガイ: $t = 11.2250$, $P = 0.0003$; イシダタミガイ vs. コシダカガンガラ: $t = 49.0000$, $P < 0.0001$; イシダタミガイ vs. タマキビガイ: $t = 49.0000$, $P < 0.0001$) (Fig. 3-2 A)。

巻貝を容器の底に固定した条件下でも、容器に入れた直後に巻貝に向かって移動したカイヤドリヒラムシはいなかった。また、巻貝の近くを移動していてもすぐに貝殻に入り込まずに、通過してしまうこともあった。しかし、実験終了時には 80%以上のカイヤドリヒラムシが巻貝に寄居した。また、どの巻貝の組み合わせにおいてもほとんどの個体がイシダタミガイに寄居した (paired t -test; イシダタミガイ vs. ヘソアキクボガイ: $t = 5.1230$, $P = 0.0068$; イシダタミガイ vs. コシダカガンガラ: $t = 8.3670$, $P = 0.0011$; イシダタミガイ vs. タマキビガイ: $t = 6.3900$, $P = 0.0031$) (Fig. 3-2 B)。ヘソアキクボガイとの組み合わせを除いた、イシダタミガイとコシダカガンガラ、あるいはタマキビガイとの組み合わせにおいては、イシダタミガイに寄居したカイヤドリヒラムシの数は、宿主が自由に動ける条件下と比べ低くなることが示された (ANOVA; イシダタミガイ vs. ヘソアキクボガイ; $F_{1,8} = 2.9700$, $P = 0.1230$; イシダタミガイ vs. コシダカガンガラ; $F_{1,8} = 9.5290$, $P = 0.0150$; イシダタミガイ vs. タマキビガイ; $F_{1,8} = 7.2000$, $P = 0.0278$)。このことは、カイヤドリヒラムシの寄居には巻貝の移動も影響していることを示唆する。

また、巻貝の外套膜の長さを統一した実験では、どちらの組み合わせにおいてもカイヤドリヒラムシのほとんどがイシダタミガイに寄居した (paired t -test; イシダタミガイ vs. ヘソアキクボガイ: $t = 3.0679$, $P = 0.0373$; イシダタミガイ vs. コシダカガンガラ: $t = 3.8753$, $P = 0.0179$) (Fig. 3-2 C)。

プランクトンネットキューブを用いた実験では、カイヤドリヒラムシは容器内を動き回っていたが、イシダタミガイを入れたキューブに向かうカイヤドリヒラムシは見られなかった。24 時間の飼育後も、イシダタミガイの有無に関わらず、キューブに集まったカイヤドリヒラムシは見られなかった。

考察

カイヤドリヒラムシは同じ大きさの殻径を持つ潜在的宿主巻貝間の中で、特にイシダタミガイの中で多く見つかった。潜在的宿主巻貝の間では殻径に対する相対的な外套膜の長さは異なっており、他の巻貝よりもイシダタミガイで長かった。このことは同じ殻径を持つ潜在的宿主巻貝の間で比べた場合、カイヤドリヒラムシにより大きい利用空間を提供できることを意味している。しかし、外套膜の長さの違いを補正して行った選択実験も、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイを選択的に利用した。この結果から、宿主巻貝の外套膜の長さという形態的な違いはカイヤドリヒラムシの宿主の選択に影響する主要因ではないと考えられる。すなわち野外での寄居率や寄居個体数の違いは、宿主の外套膜の長さなど形態的な特徴により受動的に生じているわけではなく、カイヤドリヒラムシによる宿主巻貝の選択によって生じていたと言える。

扁形動物の仲間が、化学物質を感知できるということはすでに報告されている (Collins and Gerald 2008)。Iwai et al. (2009) は、陸上扁形動物の 1 種 *Platydemus manokwari* が餌巻貝から出された粘液の化学物質を識別し、巻貝を追うことを報告している。巻貝を固定した場合、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイに多く寄居した。このことはカイヤドリヒラムシが自発的にイシダタミガイに寄居したということを示し、イシダタミガイを認識していることを示唆している。しかし、生きたイシダタミガイをプランクトンネットで作ったキューブに入れ、カイヤドリヒラムシが直接触れることができないようにした場合、そのキューブの周りに集まることはなかった。また、巻貝を固定、もしくは自由に移動できる条件下では、容器に放たれたカイヤドリヒラムシがすぐに巻貝に向かって移動することはみられなかった。これらのことは、カイヤドリヒラムシの宿主巻貝への寄居は、巻貝から出ている化学物質だけに応答して起こっている訳ではないことを示唆している。

しかし、巻貝が自由に動ける条件下ではイシダタミガイがカイヤドリヒラムシの上や側を這った際に、カイヤドリヒラムシがイシダタミガイを探すように前体部を持ち上げる、あるいは追跡する動きが観察された。この場合、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイから分泌される化学物質と腹足の動きの刺激を受けている可能性がある。イシダタミガイが這った後の基質には、その粘液が付着しており (Hutchinson et al. 2007)、イシダタミガイがいる場所には、粘液由来の化学物質が存在していると考えられる。つまり、巻貝から出される水溶性の化学物質だけでなく、巻貝自体の腹足の動きや移動による直接的な物理的接触が加わることで、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイを認識しているのかもしれない。

第2章では、カイヤドリヒラムシの寄居率や寄居個体数には潜在的な宿主巻貝間で違いが見られ、イシダタミガイにおいていずれも高いことが判明した。この野外における宿主利用の違いは、カイヤドリヒラムシの宿主に対する能動的な選好性によるものであるということが本章で明らかとなった。巻貝を容器に固定しても、カイヤドリヒラムシがイシダタミガイに多く寄居したという事実は、カイヤドリヒラムシは宿主巻貝を識別して能動的に侵入したことを意味する。しかし、野外においても、室内実験においても他の巻貝に全く入り込まないわけではなかった。イシダタミガイがいない場合、カイヤドリヒラムシは他の巻貝を一時的に利用しているのかもしれない。

第4章

カイヤドリヒラムシの生活史

はじめに

青森県陸奥湾の夏泊半島では、カイヤドリヒラムシは潮間帯を生息域とするイシダタミガイを主要な宿主としており、潮下帯に生息するヘソアキクボガイやコシダカガンガラ、潮上帯に生息とするタマキビガイはほとんど利用しないなど、宿主に対する選好性があることが示された（第2章）。また宿主の生息環境が異なるとその寄居率や寄居個体数は異なり、海水が多く残る環境に生息しているイシダタミガイほどカイヤドリヒラムシが多く見られることが分かった。カイヤドリヒラムシは乾燥や外敵から身を守るような外部構造はもっておらず、乾燥や捕食圧に対して非常に弱い。実際、カイヤドリヒラムシは、潮だまりにもしばしば生息している大型のウスヒラムシや潮下帯に住むハゼ類によって捕食され、水から出されると数分以内に死んでしまうことが観察されている。そこで、第2章では、カイヤドリヒラムシは捕食圧の高い潮下帯から捕食圧の低い潮間帯へと進出する過程で乾燥を避けるため、干潮時にも潮間帯に留まる巻貝の外套腔に住み着く習性を発達させてきたのではないかと考察した。しかし、カイヤドリヒラムシがどのようにして宿主巻貝との関係を持つように進化したのか解明するための情報はまだ十分ではない。

加藤（1933）は、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイの貝殻内で排泄物を食べており、宿主に害を与えていないことから片利共生であると考察している。また、出口ら（2009）はカイヤドリヒラムシの初期発生を観察し、夏期に繁殖することを報告している。カイヤドリヒラムシは卵から直接発生した後に浮遊幼生期を経て底生生活期に移

行し、宿主での寄居生活を開始する（settlement）という。しかし、野外での生活史は明らかにされてはいない。

寄生や共生などの関係をもつ利用者と宿主は、その関係が強くなるにつれて適応度を高めるように互いの生活史を変化させていることが知られている（井上・加藤 1993）。このことは、生活史の研究は両者の関係の強さを評価することのみならず、利用者が宿主と共生関係を強めてきた理由を解明する端緒となる。カイヤドリヒラムシは自由生活から片利共生生活へと生活様式を変え、巻貝を宿主として利用するようになったと考えられるが（第 2 章）、この過程を理解するためには、カイヤドリヒラムシの食性や生活史の解明に加えて、宿主とカイヤドリヒラムシの個体群動態の季節変化を明らかにする必要がある。

本章では、カイヤドリヒラムシが潮間帯の巻貝を宿主として利用する理由を明らかにするために、食性および個体群動態をイシダミガイの個体群動態と合わせて調べた。カイヤドリヒラムシが利用している餌資源を明らかにするために 2 つの異なる環境（干潮時に水がはける転石、干潮時にも水が残る潮だまり）において潜在的な餌資源とカイヤドリヒラムシの安定同位体解析を行った。また、カイヤドリヒラムシの産卵数や卵サイズ、カイヤドリヒラムシの個体長や寄居率、そして寄居個体数の季節変化を 2 年半にわたって調べた。その結果に基づき、カイヤドリヒラムシの成長や生残について解析し、カイヤドリヒラムシがイシダミガイの外套腔に寄居するようになった理由について考察した。

材料と方法

調査地および個体数、個体長の測定

調査は、青森県平内町茂浦の青森県産業技術センター水産総合研究所近くの転石

(40°56'44.6"N 140°51'36.0"E) (Fig. 4-1 A)、および転石から 200m ほど離れた潮だまり (40°56'41.4"N 140°51'31.1"E) (Fig. 4-1 B) でおこなった。転石は 1-3 層の長径 30 cm ほどの石が粗い砂の上に乗った環境で、干潮時には完全に干上がり、イシダタミガイは転石の表面に付着していた。潮だまりでは、干潮時にも岩盤にできた浅い窪み (約 1 m×5 m×10 cm 深さ) に水が残り、転石とは異なり、イシダタミガイは常に海水に浸っていた。

採集は 2010 年 10 月から 2012 年 11 月まで、毎月の大潮の最干潮時におこなわれた。潮だまりと転石、それぞれにおいて、宿主イシダタミガイの密度、および殻径、カイヤドリヒラムシの寄居率と寄居個体数を調べた。各調査地に 50 cm×50 cm のコドラートをランダムに 3 ヶ所設置し、その中にいたすべてのイシダタミガイの殻径をノギスで測定した。そのうち 1 ヶ所のコドラート内にいたイシダタミガイを個別に袋に入れて東北大大学浅虫海洋生物学教育研究センターへ持ち帰り、軟体部を傷つけないようにハンマーで割った後、貝殻および軟体部を海水でみたしたシャーレの中に入れ、寄居していたカイヤドリヒラムシの個体数を調べた。また、得られたカイヤドリヒラムシを 0.35M MgCl₂ 海水で麻酔処理をして十分に弛緩させた後、実体顕微鏡下で体長を測定した。

第 2 章で殻径 12 mm 以下のイシダタミガイではカイヤドリヒラムシの寄居率が極端に低くなることが示されたので、カイヤドリヒラムシの寄居率や寄居個体数については殻径 12 mm 以上のイシダタミガイを用いて解析した。カイヤドリヒラムシの体サイズや個体長の変化は normal quantile–quantile plot によりコホートを分けて解析した。

これらの調査とは別に、2012 年 8-9 月にかけて一週間ごとに潮だまりと転石それぞれにおいてイシダタミガイを無作為に採集し、寄居していたカイヤドリヒラムシの新規加入個体の体サイズ変化を調べた。

カイヤドリヒラムシの餌資源

カイヤドリヒラムシの餌資源を明らかにするために、カイヤドリヒラムシおよびその潜在的餌資源について炭素および窒素の安定同位体解析を行った。2013 年 7 月に潮だまりと転石、それぞれの調査地から採集したカイヤドリヒラムシ、イシダタミガイの筋肉、イシダタミガイの排泄物、転石表面からブラシでこすり取った付着物を各 5 サンプルずつ解析に用いた。解析に用いたサンプルはそれぞれ炭酸塩除去のために 1N 塩酸処理し、蒸留水で洗浄後、60℃で一昼夜乾燥させ、スズ箔に包んで保存した。安定同位体比の測定は山梨大学岩田智也教授に依頼した。

カイヤドリヒラムシの繁殖

カイヤドリヒラムシでは 7-8 月の夏期にかけて性成熟した個体が見られることが知られている（出口ら 2009）。そこで、成熟個体の大きさと産卵数との関係を 2012 年 7-9 月にかけて得られた個体を用いて調べた。成熟したカイヤドリヒラムシは貯精嚢に成熟卵を貯蔵しており、受精嚢が白く発達しているので、容易に判別できる（出口ら 2009）（Fig. 4-2）。潮だまりと転石、それぞれの調査地から採集してきたイシダタミガイの中から成熟したカイヤドリヒラムシを取出し、海水で満たしたプラスチック容器（7.5 cm×9 cm×4.5 cm 深さ）にそれぞれ 1 匹ずつ入れた。この容器を 23℃の恒温機の中に収容し、暗条件下で飼育した。カイヤドリヒラムシはゼラチン様物質からなるシート（卵板）の中に卵を産み出し（Fig. 4-3）、そのシートを基質に産み付ける。この卵板が容器の底面、あるいは側面に産み付けられていた場合、すみやかに剥がし取り、プレパラートに乗せて実体顕微鏡下で写真をとり、卵板中のすべての卵の数を測定した。また、産卵したカイヤドリヒラムシの親個体の大きさも実体顕微鏡下で測った。

さらに、2012 年 7-9 月にかけて転石と潮だまりそれぞれにおいて無作為に採集してきたイシダタミガイからカイヤドリヒラムシを上述のようにして得て、カイヤドリヒラ

ムシの成熟個体の大きさと卵の大きさの関係を調べた。測定にあたっては、まず実験室において、カイヤドリヒラムシの大きさを測ったのちに、腹面を針で突き、卵割を開始する前の受精卵を取り出した（出口ら 2009）。取り出した卵は実体顕微鏡下で速やかに写真を撮った卵の大きさを測定した。なお、この測定では両調査地において 15 個体の成熟個体を用い、1 個体あたり少なくとも 10 個の卵の直径を測定した。

統計解析

転石および潮だまりの調査地間における、12mm 以上の殻径をもつイシダタミガイの密度、カイヤドリヒラムシの寄居個体数とその個体長、また定着後のカイヤドリヒラムシ幼個体の大きさの違いについては、Repeated-measures analysis of variance (ANOVA) により、有意検定をおこなった。これら測定項目について有意な違い ($P < 0.05$) が見られた場合、Tukey HSD 検定により調査日毎の生息場所間での違いを検定した。転石と潮だまりにおけるカイヤドリヒラムシの寄居率の違いについては、chi-squared 検定を行い、各調査日における違いを Fisher's exact probability 検定により解析した。いずれの場合も、Type I エラーを抑えるため Bonferroni 補正をおこなった。転石および潮だまりで得られたカイヤドリヒラムシの卵サイズの大きさの違いは *t*-test で解析された。カイヤドリヒラムシの成熟個体の大きさと産卵数との関係については simple linear regression 分析により調べられた。最後に、転石と潮だまりにおけるカイヤドリヒラムシの体サイズと産卵数の回帰式の違いを ANCOVA により検定した。これらの統計処理はすべて R ver. 2.15.1 (R Development Core Team, 2005) を用いておこなった。

結果

餌資源

安定同位体解析の結果、カイヤドリヒラムシとイシダタミガイの $\delta^{15}\text{N}$ の値は場所に問わず変わらず、両者はほぼ同じ値であった (Fig. 4-4)。しかし、 $\delta^{13}\text{C}$ の値は兩種の間で、特に潮だまりにおいて大きく異なっていた (Fig. 4-4)。カイヤドリヒラムシの $\delta^{13}\text{C}$ の値は潮だまりにおいてはイシダタミガイの排泄物よりも 7‰程低く、転石においては 4‰程高かった。潮だまりではカイヤドリヒラムシの $\delta^{13}\text{C}$ の値は 2‰、 $\delta^{15}\text{N}$ の値は 5‰程転石表面の付着物の値に比べて高かった。

宿主の密度と寄居率

2011 年の転石におけるいくつかのサンプリングを除いて、12mm 以上のイシダタミガイはどちらの環境においてもコドラートあたり 5-15 個体みられた (Fig. 4-5)。また、12mm 以上のイシダタミガイの密度には季節的な変化は見られず、転石と潮だまりの間において密度の違いは見られなかった (repeated-measures ANOVA: $F_{1, 176} = 0.107$, $P = 0.744$)。

12mm 以上の殻径をもつイシダタミガイにおけるカイヤドリヒラムシの寄居率は転石において平均 74.7%、潮だまりにおいて平均 91.2%であり、潮だまりにおいて高い寄居率がみられた (chi-squared test: $P < 0.001$) (Fig. 4-6)。

カイヤドリヒラムシの個体長、および密度

カイヤドリヒラムシの寄居個体数は 8 月から 9 月にかけて最も多かったが、その時期は個体長が最も小さく、転石では $0.93 \pm 0.43(\text{SD})$ mm (2011. 8.17)、潮だまりでは 1.44 ± 0.66 mm (2012. 9.3)であった (Fig. 4-7)。その後、カイヤドリヒラムシは翌年の夏期

にかけて徐々に成長した。カイヤドリヒラムシの個体長の成長を生息地間で比較するため normal quantile–quantile plot をおこなったところ、どちらの場所でも 2011 年 9 月から 2012 年 8 月までを第 1 コホート、2012 年 8 月から 2013 年 8 月までを第 2 コホートと識別することができた。周年を通した解析の結果、カイヤドリヒラムシの個体長は転石に比べ潮だまりの方が大きかった (repeated-measures ANOVA: 第 1 コホート, $F_{1,1440}=83.040$, $P=0.002$; 第 2 コホート, $F_{1,1744}=67.57$, $P=0.009$)。しかし、転石のカイヤドリヒラムシの個体長は 6 月頃には潮だまりのカイヤドリヒラムシの個体長に近づき、夏期にはその違いは見られなくなった (Fig. 4-7, 8)。

殻径 12mm 以上のイシダタミガイ 1 個体あたりに寄居していたカイヤドリヒラムシの個体数の変化を見ると、初夏に最も少なくなり、転石では 1.0 ± 0.5 (SD) 匹 (2012. 6.5)、潮だまりでは 2.4 ± 0.55 匹 (2012. 7.19) であった。しかし、晩夏から初秋にかけて最も多くなり、転石で 7.33 ± 2.99 匹 (2011. 8.17)、潮だまりでは 37.89 ± 24.18 匹 (2011. 9.14) であった (Fig. 4-7, 9)。その後、両地点とも個体数は翌年 1 月にかけて徐々に減少した (Fig. 4-7, 9)。周年を通して、潮だまりのカイヤドリヒラムシの個体数は転石に比べ多かった (repeated-measures ANOVA: 第 1 コホート, $F_{1,259}=30.86$, $P=0.002$; 第 2 コホート, $F_{1,239}=30.86$, $P=0.013$)。

カイヤドリヒラムシの繁殖

8-9 月にかけて転石で採集した成熟カイヤドリヒラムシ 12 個体、潮だまりで採集した 20 個体を実験室内で観察したところ 10 日以内に卵板を 1 つ産んだ。カイヤドリヒラムシが産んだ卵板 1 つあたりの卵数は親個体の体サイズが大きいほど多かった (Fig. 4-10)。しかし、親個体の体サイズと産卵数との回帰直線には、転石と潮だまりの 2 つの環境間で違いは見られなかった (slope; ANCOVA: $F_{1,28}=0.273$, $P=0.605$, elevation; $F_{1,29}=0.173$, $P=0.679$)。これらのデータをプールすると、体サイズと産卵数の回帰式

を、推定産卵数 $=339.37 \times \text{体サイズ} - 818.55$ ($n=34$, $r^2=0.625$, $P=0.003$) として現すことができた。そこでこの式を用いて親カイヤドリヒラムシの体長から産卵数を推定した。成熟個体から直接得られた卵の直径は、どちらの環境においても 0.132-0.141mm の間にあり、親個体の体サイズに関わらず、その卵の大きさに違いは見られなかった(t -test: $t=0.018$, $P=0.985$)。

巻貝へ定着後のカイヤドリヒラムシの大きさを 2012 年 8-9 月の期間に 1 週間ごとに調べたところ、カイヤドリヒラムシの幼個体の体サイズは転石と潮だまりの間に有意に異なっていた (repeated-measures ANOVA: $F_{1, 420}=10.290$, $P=0.001$)。すなわち、加入初期 (1 週目) は転石で $0.64 \pm 0.04\text{mm}$ ($n=25$)、潮だまりで $0.67 \pm 0.05\text{mm}$ ($n=30$) と、両環境間で大きさに違いは見られなかったが、4 週間後には転石で $1.05 \pm 0.90\text{mm}$ 、潮だまりで $2.04 \pm 1.04\text{mm}$ となり、潮だまりの方で幼個体の体長は大きくなった (Fig. 4-11)。

考察

カイヤドリヒラムシの生活史と餌資源

両環境共にイシダタミガイに寄居しているカイヤドリヒラムシの個体数は 8-9 月にかけて急激に増えた。これらの個体の体長は 1mm 前後であったが、その翌年の 7-8 月にかけて 4-5mm まで成長し、8 月頃にはほぼ見られなくなった。夏期に得られたカイヤドリヒラムシが性成熟していたとする出口ら (2009) の報告を合わせて考えると、カイヤドリヒラムシは夏期、主に 8 月に繁殖し、寿命は 1 年であると言える。

イシダタミガイの貝殻の内側にカイヤドリヒラムシの卵は見られず、また飼育下においてカイヤドリヒラムシが産んだ卵を自ら食べることはなかった。カイヤドリヒラムシでは卵を産みつけてから、およそ 2-3 週間で幼個体が孵化する。孵化後 1 週間ほどの

浮遊幼生期を送ると、その後底生生活期に移行し、巻貝に寄居すると考えられている（出口ら 2009）。今回の調査においても、親個体の消失と幼個体の出現はわずか 1 ヶ月の間に限られることから、野外におけるカイヤドリヒラムシの繁殖は実験室内の観察と同様に（出口ら 2009）夏期の 1 ヶ月ほどの間におこなわれていると考えられる。

安定同位体の解析結果によれば、カイヤドリヒラムシとイシダタミガイの $\delta^{15}\text{N}$ の値には大きな違いはなかった。このことは、両者が同じ栄養段階にいることを示し、主に 1 次生産者を餌としていることを示唆している。すなわち、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイの粘液や排泄物などは餌資源としておらず、餌資源をイシダタミガイに依存していないことが判明した。

カイヤドリヒラムシが属する多岐腸類では口が腹面中央あたりに位置している。そのため、貝殻の外のものを捕食するためには宿主から離れなければならない。実際、単独で飼育すると、カイヤドリヒラムシは餌として与えたアルテミアを捕食し、性成熟することが報告されている（出口ら 2009）。このような飼育実験と本章での安定同位体解析の結果から、本種は雑食性であると考えられる。本研究では、餌資源の特定には至らなかったが、カイヤドリヒラムシは餌をイシダタミガイに依存せずに、イシダタミガイの外で摂っているということがわかった。

宿主の生息地とカイヤドリヒラムシの生活史特性

生息地の環境の違いは宿主の生活史や個体群動態への影響を通じて、寄生者の個体群動態や生残にも影響を及ぼす（DeWitt et al. 2013; Kadlec et al. 2003）。本調査では殻径 12mm 以上の大きさのイシダタミガイの体サイズおよび密度は両環境間で季節的な違いが見られなかったことから、カイヤドリヒラムシが宿主として利用することのできるイシダタミガイの密度は 1 年を通して安定して存在していることがわかった。しかし、カイヤドリヒラムシの寄居率や寄居個体数には潮だまりと転石の両環境間で違いが見

られ、特に幼個体の加入には大きな違いが見られた。

新規加入した直後のカイヤドリヒラムシの幼個体の大きさには、両環境間で差がなかった。しかし新規加入後 1 ヶ月の間に、幼個体の体長は転石に比べ潮だまりで大きくなった。このことは、少なくとも幼個体にとっては、転石よりも潮だまりのほうが成長がよく、摂餌環境が良いことを示唆している。イシダタミガイは潮だまりでは、干潮時にも水の中にいることが分かっている（第 2 章）。このように、潮だまりに生息するイシダタミガイの生態的特徴が、カイヤドリヒラムシが宿主の外でより活発に摂餌することをゆるす要因の一つになっている可能性がある。

カイヤドリヒラムシの寄居個体数は転石に比べ潮だまりで多く、特に 8-10 月の幼個体の加入時期に著しく多かった。これは、潮だまりの方が転石に比べてカイヤドリヒラムシの幼個体が定着しやすい環境であることを示唆している。この可能性を検証するために、転石と潮だまりそれぞれにおいて、宿主 1 個体に寄居している全ての親カイヤドリヒラムシが生むと考えられる総卵数（birth rate）を産卵直前のカイヤドリヒラムシの体サイズおよび体サイズと産卵数の回帰式から推定した。その結果、推定された宿主巻貝あたりのカイヤドリヒラムシの総産卵数は、潮だまりでは 2011 年の場合 2250 個、2012 年で 2700 個、転石では 2011 年の場合 900 個、2012 年の場合 400 個であった（Table 4-1）。これら値を、各年、各地点の宿主 1 個体当たり最も多い幼個体の寄居数と比較すると、出征した個体のうち 2011 年の転石では 0.71%、潮だまりでは 1.52% の個体がイシダタミガイに寄居したことになる。また、2012 年の場合は、転石で 1.75%、潮だまりで 3.03% となった。この結果は、両年とも転石に比べて潮だまりの方がより多くの個体が宿主に戻ってきていることを示唆している（Table 4-1）。

しかし、冬から初夏にかけて潮だまりのカイヤドリヒラムシの寄居個体数は転石とほぼ同じレベルに減少した。このことは潮だまりが生活史後半のカイヤドリヒラムシの生息地としては必ずしも最適ではないことを示唆している。そこで、2011 年に新規に寄

居した個体数と 2012 年の産卵前の成熟個体の個体数から生残率の推定をおこなった。その結果、8-9 月に幼個体が新規寄居した後、翌年 7-8 月の産卵期になるまでの生残率は転石では 12.19%、潮だまりでは 6.34%であり、転石の方で高くなる傾向が見られた (Table 4-1)。カイヤドリヒラムシの大きさと産卵数には相関が見られたが、親個体の体長と卵サイズには生息地間で違いはなかった。このことは、カイヤドリヒラムシは体サイズを大きくして産卵数を増やすという繁殖戦略を持っていることを示唆している。しかし、転石と潮だまりの 2 つの環境間を比較すると、潮だまりの方が寄居個体数や体サイズは大きく、多くの卵を生産し、さらに新規寄居個体数も多い、しかし、潮だまりでは新規寄居後の死亡率が高く、新たに生まれた 1 個体が残すことのできる子孫の数には大きな差は見られなくなった。

カイヤドリヒラムシの生残率が潮だまりで低くなるのはなぜだろうか。安定同位体解析によれば、成熟したカイヤドリヒラムシとイシダタミガイの栄養段階は等しく、カイヤドリヒラムシは宿主の外部から同化物を得ていることが考えられる。しかし、新規個体加入時の成長率が転石に比べ潮だまりで高かったことは、潮だまりの方が獲得した餌量が多かったことを意味している。本研究の野外調査や室内観察では、宿主から出されたカイヤドリヒラムシは潮だまりにもしばしば生息している大型のウスヒラムシやハゼ類によって速やかに捕食された。これら捕食者は、潮だまりには共通に見られることから、巻貝の外で摂餌に多くの時間を充てることは捕食の危険がより高くなることを示唆している。潮だまりは餌が十分にある一方で、より多くの捕食者が存在するため、新規寄居後のカイヤドリヒラムシの生残率は潮だまりで低くなるのだろう。一般に、寄生者の密度は、宿主の栄養状態や生息環境に大きく影響される (Mestre et al. 2014)。カイヤドリヒラムシにおいても宿主の生息環境によって摂餌に充てられる時間に違いが生じ、それらが一方で生残に作用し、カイヤドリヒラムシの個体数や大きさに影響を与えていると考えられる。

上述のように、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイに餌資源を依存せず、産卵の際には宿主を離れることから、いわゆる狭義の共生関係にあるとは言えない。第2章では、カイヤドリヒラムシは潮間帯において乾燥や捕食から身を守るためにイシダタミガイを利用しており、片利共生であることが示唆されている。カイヤドリヒラムシの他にも巻貝の中に生息する多岐腸類がいくつか知られており、これらの種のほとんどは潮間帯から潮下帯上部に生息している (Wheeler 1894; Kato 1933, 1935, 1944; Schlechter 1943; Hyman 1967; Faubel et al. 2007)。これら扁形動物は捕食者から逃れる一方で、乾燥から身を守るために巻貝と密接な関係を持つように進化してきているのかもしれない。これらのことを明らかにするためには、カイヤドリヒラムシ以外の扁形動物の生活史や生態についての生物地理的および系統的な知見の集積が必要である。

第 5 章

カイヤドリヒラムシの繁殖生態

はじめに

生物にとって産卵を含む繁殖は生活史の中でもっとも重要なイベントの 1 つである。卵を保護しない種においては、卵の生残は産卵場所の物理・化学的要因に加えて、捕食など生物学的な要因の影響を強く受ける (Hirayama and Kasuya 2009, 2013)。これまで様々な種についてメスの産卵場所選好性について研究がおこなわれてきた

(Refsnider and Janzen 2010, Martinez et al. 2013)。例えば、植物食の昆虫では幼虫期の餌となる植物種のもつ化学物質を手掛かりに卵を直接産みつけることが知られている (Thompson 1988, Gripenberg et al. 2010)。また、産卵場所の選好に影響する生物学的要因としてアメンボや蚊の例がある。アメンボ *Aquarius paludum* のメスは卵寄生蜂 *Tiphodytes gerriphagus* が周囲に存在する場所では水面からより深い位置に産卵する (Hirayama and Kasuya 2009)。また、蚊の仲間には捕食者である魚の化学物質が存在する場所では産卵を控えるという (Angelon and Petranka 2002)。このようにメスによる産卵場所の選択には孵化した幼体の生存に関わるリスクも影響する

(Hirayama and Kasuya 2014)。したがって、ある種の産卵場所の選好性を理解するためには、宿主や捕食者などとの生物間相互作用の影響についても考慮する必要がある。

第 2 章から第 4 章では、カイヤドリヒラムシはインダタミガイを主要な宿主として利用しており、宿主に対する選好性があることを実験的に示した。雌雄同体であるカイヤドリヒラムシは、自家受精は行わずに交尾によって体内受精をする (出口ら 2009)。7-8 月にかけてカイヤドリヒラムシは約 5 mm の体長となり成熟して産卵し、9-10 月頃には死滅する (第 4 章参照)。カイヤドリヒラムシは飼育下では基質に受精卵を含む卵板

を産み付け、卵板には 300-1700 個の卵が含まれる（第 4 章参照）。本種は直接発生し、23℃で飼育すると約 14-17 日で孵化し、およそ 1 週間の遊泳期を経て底生生活期に移行し、巻貝に寄居するようになる（出口ら 2009）。

カイヤドリヒラムシの卵は繁殖期でも、イシダタミガイの貝殻の内側には見られず（Kato 1933、第 4 章）、飼育下の密閉条件でも親個体に食べられることはなかった。これらの事実は、カイヤドリヒラムシがイシダタミガイの外で産卵していることを強く示唆する（Kato 1933, 出口ら 2009, 第 4 章）。しかし、カイヤドリヒラムシが宿主から離れて産卵するか否かは不明である。

そこで、本章ではカイヤドリヒラムシの産卵場所と産卵の条件を明らかにすることを目的に実験をおこなった。すなわち、繁殖期である夏期にカイヤドリヒラムシを採集し、様々な条件で 4 週間飼育して産卵に至るまでの日数を調べた。また、カイヤドリヒラムシの卵の生残に与える外的要因の影響や卵の乾燥に対する耐性を評価した。これらの結果をもとに、カイヤドリヒラムシの産卵場所について検討した。

材料と方法

実験材料

2013 年 7-9 月と 2014 年 8-10 月にかけて、野外から採集してきたイシダタミガイをハンマーで割った後、貝殻および軟体部を海水でみたしたシャーレの中に入れ、寄居していたカイヤドリヒラムシを取り出した。交尾を終えたカイヤドリヒラムシにおいては、成熟卵が貯蔵された受精嚢が白くはっきりと見える（Fig. 4-2）。そこで本研究ではこのように性成熟した個体だけを集めて使用した。

カイヤドリヒラムシと一緒に飼育する潜在的宿主巻貝としてイシダタミガイ・ヘソアキクボガイ・コシダカガンガラ・タマキビガイを選んだ（第 3 章）。これらの巻貝は野外から採集してきた後、0.35M MgCl₂ 海水に入れ麻酔処理をし、弛緩した外套膜およ

び軟体部をピペッティングすることで内部にいるカイヤドリヒラムシを取り除いてから実験に用いた。

産卵実験

カイヤドリヒラムシの産卵に関わる条件を明らかにするために、異なる条件を設定した容器に性成熟したカイヤドリヒラムシを一匹ずつ入れて飼育し、産卵の有無を4週間観察した (Table 5-1)。実験は 24℃暗条件の恒温機の中でおこない、設定した条件は以下の通りで、いずれも同じ容量のプラスチック容器 (7.5 cm×9 cm×4.5 cm) を用い、各条件に 20 個体ずつカイヤドリヒラムシを用いた。

単独飼育区 (N) : 海水のみで満たした容器。

非拘束イシダタミガイ区 (M) : カイヤドリヒラムシの主要な宿主であるイシダタミガイ (16.83 mm±0.35 (SD)) 1 匹を入れ、海水で満たした容器。

非拘束ヘソアキクボガイ区 (C) : 潮下帯から潮間帯下部によく見られ、カイヤドリヒラムシの潜在的宿主巻貝と考えられるヘソアキクボガイ (19.24 mm±0.72) を入れ、海水で満たした容器。

非拘束コシダカガンガラ区 (O) : 潮下帯から潮間帯下部によく見られ潜在的宿主巻貝と考えられるコシダカガンガラ (18.67 mm±0.61) を入れ、海水で満たした容器。

非拘束タマキビガイ区 (L) : 潮間帯上部から潮上帯によく見られ潜在的宿主巻貝と考えられるタマキビガイ (15.69 mm±0.52) を入れ、海水で満たした容器。

イシダタミガイ空貝殻区 (MS) : イシダタミガイの貝殻 (17.57±1.03) だけを容器の中に入れ、海水で満たした容器。

イシダタミガイ飼育水区 (MM) : イシダタミガイを1晩飼育し、イシダタミガイを取出したあとの海水を入れた容器。なお飼育水および容器は毎日交換した。

固定イシダタミガイ区 (F) : イシダタミガイ (16.47 mm±0.37) の貝殻背面を容器の底にシリコンボン드로接着固定し、海水を満たした容器。

垂下イシダタミガイ区 (H) : イシダタミガイ ($16.1\text{ mm}\pm0.26$) を容器のふたから糸で吊るし、海水を満たした容器。

イシダタミガイと石区 (MS) : イシダタミガイ ($16.23\text{ mm}\pm0.56$) と潮下帯から採集した石 ($6.61\text{ mm}\pm0.49$) を入れた、海水を満たした容器。

これらの実験における条件の違いは以下ようになる (Table 5-1)。

・非拘束巻貝 : イシダタミガイ、ヘソアキクボガイ、コシダカガンガラおよびタマキビガイは容器内を自由に動くことができるため、海水には貝殻由来と軟体部由来の水溶性化学物質が出される。また、容器表面には腹足から分泌された粘液が付着する。さらに物理的作用として巻貝からの接触 (受動的)、およびカイヤドリヒラムシからの接触 (能動的) が起こりうる。

・イシダタミガイの空貝殻 : 海水には貝殻由来の水溶性化学物質が出される。また、容器の底面と貝殻の間に狭い空間が生じる。

・イシダタミガイ飼育水 : 海水には貝殻および軟体部由来の水溶性化学物質が出されている。また、容器表面には粘液が付着している。

・固定イシダタミガイ : 海水には貝殻および軟体部由来の水溶性化学物質が出される。またカイヤドリヒラムシからの接触 (能動的) が起こりうる。容器とイシダタミガイとの間に、狭い空間が生じる。

・垂下イシダタミガイ : 海水には貝殻および軟体部由来の水溶性化学物質が出される。カイヤドリヒラムシは直接イシダタミガイに接触することはできない。

・イシダタミガイと石 : 海水には貝殻および軟体部由来の水溶性化学物質が出される。また、容器、および石の表面の一部には粘液が付着する。さらに物理的作用として巻貝からの接触 (受動的)、およびカイヤドリヒラムシからの接触 (能動的) が起こりうる。石と容器の底面、および側面との間にはイシダタミガイは入り込めない、カイヤドリヒラムシとの接触が起こらない狭い空間を生じる。

なお、いずれの条件でも観察期間中はカイヤドリヒラムシに餌は与えなかった。また、カイヤドリヒラムシと巻貝が弱らないよう毎日水替えをおこない、容器内、巻貝の貝殻表面および石の表面に卵板が産み付けられているか否かを確認した。また、実験終了時に産卵していなかったカイヤドリヒラムシは性成熟を確認するため、観察終了後に単独飼育条件下に移し産卵の有無を確認した。

カイヤドリヒラムシの卵への巻貝の影響

カイヤドリヒラムシが生んだ卵を巻貝が捕食するか否か、また巻貝と一緒にいることが胚発生や孵化に影響を及ぼすかを明らかにするため、カイヤドリヒラムシが卵板を産み付けた直後の容器に、イシダタミガイ、ヘソアキクボガイ、コシダカガンガラ、タマキビガイをそれぞれ 1 個体ずつ入れて飼育した。実験はいずれの巻貝も 10 個体ずつ 24℃暗条件で 30 日間おこなった。その間、毎日観察をおこなった。

カイヤドリヒラムシの卵板への乾燥刺激

カイヤドリヒラムシの産卵環境を推定するために、卵の乾燥耐性を調べた。容器に産み付けられたカイヤドリヒラムシの卵板を剥がし取り、海水で満たしたシャーレと海水を入れていないシャーレにそれぞれ入れて 30 分間、室温 28℃明条件で観察をおこなった。また、容器に産み付けられたままの卵板についても同様の観察をおこなった。それぞれ 5 例ずつの観察をおこなった。

統計解析

産卵した個体の割合を比較するために、各条件での産卵個体数について 1 週間ごとに Fisher's exact test をおこなった。また、検定の際には Bonferroni 補正をおこなった。これらの統計処理は全て、R ver 2.15.1 (R Development Core Team 2005) を用いておこなった。

結果

カイヤドリヒラムシの産卵

単独飼育区とイシダタミガイ飼育水区では1日目から、また垂下イシダタミガイ区では3日目から産卵が見られた。その後産卵する個体は急激に増え、全ての個体が1週間以内に産卵を終えた (Fig. 5-1)。イシダタミガイ空貝殻区では1日目から産卵が見られ、その後産卵する個体は増え1週間後には80% (16/20) の個体が産卵し、9日目にはすべての個体が産卵を終えた。なお、イシダタミガイ空貝殻区では、カイヤドリヒラムシの大半は容器内を這っていたが、まれに貝殻の中に入り込む個体が見られた。また、殻口近くに産んだ1個体を除き、卵は全て容器内面に産み付けられた。

非拘束ヘソアキクボガイ区では4日目、コシダカガンガラ区では2日目、タマキビガイでは1日目から産卵する個体が見られた。どの巻貝でも、その後産卵する個体はゆるやかに増加し、1週間後には約30%に、実験終了時にはそれぞれ75% (15/20)、70% (14/20)、85% (17/20) に達した (Fig. 5-1)。これら巻貝と飼育している場合、カイヤドリヒラムシは産卵の有無に関わらず巻貝の中に入り込んでいたが、タマキビガイとの飼育においては巻貝の中から出て容器内を這っている個体がいくつか見られた。

イシダタミガイ固定区では、3日目から産卵個体が見られ、その後産卵個体数はゆるやかに増加し、実験終了時には85% (17/20) の個体が産卵した (Fig. 5-1)。この実験区では、イシダタミガイは常に腹足を貝殻から出して動かしており、観察中はイシダタミガイの外に出ているカイヤドリヒラムシは見られず、産卵した後もイシダタミガイの中に入ることが判明した。

一方、イシダタミガイと飼育した非拘束イシダタミガイ区では、4週間後の実験終了時までに産卵する個体は見られなかった (Fig. 5-1)。容器内に石を設置した条件では、実験開始4日目に3個体の産卵が見られた。しかし、その後産卵する個体は少なく、実

験終了時に産卵した個体数は全体の 30% (6/20) であった。なお、この実験区では石と容器の間の狭い空間を形成する基質に産んだ個体は 3 匹、石の下面に産んだ個体は 1 匹、石の上面に産んだ個体は 1 匹、石のない場所に産んだ個体が 1 匹であった。

実験開始から 1 週間後の産卵個体数を実験区間で比較すると、単独飼育区、イシダタミガイ空貝殻区、イシダタミガイ飼育水区、垂下イシダタミガイ区の間にはいずれも産卵個体数に差は見られなかった (Table 5-2)。また、ヘソアキクボガイ区、コシダカガンガラ区、タマキビガイ区、固定イシダタミガイ区、イシダタミガイ区、イシダタミガイと石区の間においても、それぞれ差は見られなかった。しかし、イシダタミガイ空貝殻区を除く前者と後者の間の差は互いに有意であった。また、イシダタミガイ空貝殻区とヘソアキクボガイ区、コシダカガンガラ区、タマキビガイ区、固定イシダタミガイ区の間には産卵数に有意な差は認められなかった (Table 5-2)。

実験から 2 週間後の産卵数について見ると、単独飼育区、イシダタミガイ空貝殻区、イシダタミガイ飼育水区、垂下イシダタミガイ区、ヘソアキクボガイ区、タマキビガイ区、固定イシダタミガイ区の間ではいずれの組み合わせでも産卵個体数に差は見られなかった。一方、産卵数にコシダカガンガラ区とイシダタミガイと石区は単独飼育区、イシダタミガイ空貝殻区、イシダタミガイ飼育水区、垂下イシダタミガイ区との間に差が見られ、イシダタミガイ区はコシダカガンガラ区とイシダタミガイと石区を除いたすべての条件との間に有意な差が見られた (Table 5-2)。

3 週間後になると単独飼育区、イシダタミガイ空貝殻区、イシダタミガイ飼育水区、垂下イシダタミガイ区、ヘソアキクボガイ区、コシダカガンガラ区、タマキビガイ区、固定イシダタミガイ区の間ではいずれも産卵個体数に差は見られなかった。イシダタミガイと石区の産卵数は単独飼育区、イシダタミガイ空貝殻区、イシダタミガイ飼育水区、垂下イシダタミガイ区と有意に異なり、イシダタミガイ区はイシダタミガイと石区を除

いた全ての条件との間で有意な差が見られた (Table 5-2)。なお、4 週間後の産卵個体数の実験区間での差は 3 週間の結果の場合と変わらなかった (Table 5-2)。

以上のように、実験 1 週目は単独飼育区、イシダタミガイ空貝殻区、イシダタミガイ飼育水区、垂下イシダタミガイ区が他の条件と比較して有意に産卵個体が多かった。実験 2 週目では単独飼育区、イシダタミガイ空貝殻区、イシダタミガイ飼育水区、垂下イシダタミガイ区がコシダカガンガラ区、イシダタミガイと石区、イシダタミガイ区と比較して有意に産卵個体数が多く、イシダタミガイ区では他の条件と比較して有意に産卵個体数は少なかった。実験日数が経つにつれ産卵個体数は増え、実験 3 週目、4 週目にはイシダタミガイ区およびイシダタミガイと石区での産卵個体数が有意に少なかった。

なお、この実験期間中、カイヤドリヒラムシが海水の外に出ていることは無かった。カイヤドリヒラムシの大半は容器の底面と側面の角に卵板を産み付けており、海水に浸っていない場所に卵板を産み付けた個体はいなかった。また、実験終了時に産卵しなかった個体を単独飼育条件に移すと、全ての個体が 1 週間以内に産卵し、性成熟していることが確認された。

巻貝および乾燥が卵へ与える影響

カイヤドリヒラムシの卵板を潜在的宿主巻貝と共に飼育したところ、いずれの巻貝も容器内に産み付けられた卵板を捕食することはなかった。また、巻貝の有無に関わらず、容器内に産み付けられた卵板から、産卵後 18 日前後に幼個体が正常に孵化した。4 種の潜在的宿主巻貝との飼育でも単独で飼育した場合でも、孵化に要した日数には差は見られなかった (ANOVA: $F_{4, 45}=0.106$, $P=0.98$)

容器内に産み付けられた卵板を剥がし取り、海水に浸した状態で観察した卵では、卵殻の中で胚がときおり動いている様子が観察された。これらの卵はその後正常に発生し、幼個体が孵化した。一方海水から出した卵では、観察直後は海水に浸してある卵と同様

に胚の運動が観察できたが、およそ 12 分後には胚の運動は見られなくなった。また、卵割していた胚では卵割面が不鮮明となり、およそ 15 分後には卵殻の中の胚は溶け始め、20 分を経過すると胚は完全に消滅し、卵殻だけが残った。また、容器に産み付けられた卵板を水の無い状態で観察にした場合も、観察から 20-25 分後には胚の運動はなくなり、30 分後には卵殻だけが残る胚は完全に消滅した。

考察

第 2、3 章で述べてきたように、カイヤドリヒラムシは捕食や乾燥から身を守るために潮間帯のイシダタミガイに寄居していると考えられる。今回の飼育実験においても、自由に行動できるイシダタミガイやコシダカガンガラ、ヘソアキクボガイと共に飼育してもカイヤドリヒラムシを貝の外で見ることはほとんどなかった。ただし、例外的にタマキビガイと飼育した場合には、時折、貝の外でカイヤドリヒラムシを見かけることがあった。

また、固定したイシダタミガイといっしょに飼育した実験でもカイヤドリヒラムシはイシダタミガイの中に入っていた。それにもかかわらず、85%以上の個体が貝の外すなわち容器に卵板を産みつけた。このことは本実験に用いたカイヤドリヒラムシは十分に性成熟しており、自発的に宿主から離れ、産卵したことを示している。

非拘束のヘソアキクボガイやコシダカガンガラ、タマキビガイとカイヤドリヒラムシを一緒に飼育した場合も、80%前後の個体が容器の壁や底面に卵を産み付けた。これら巻貝との飼育では、カイヤドリヒラムシは巻貝の中に入り込んでいたことから、自由に動き回る巻貝に寄居している場合も、貝から離れて産卵していることになる。このことは、巻貝の存在が必ずしもカイヤドリヒラムシの産卵抑制となっていないことを示している。

カイヤドリヒラムシは拘束していないイシダタミガイと一緒にいる時も、他の潜在的宿主巻貝の場合と同様に時折貝殻の外に出ているものと思われる。しかし、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイが自由に動き回れる場合では全く卵を産まなかった。実験に用いたカイヤドリヒラムシは性成熟していたので、この結果はイシダタミガイといるとカイヤドリヒラムシは産卵を抑制する、あるいは抑制されていることを示している。

一方、垂下イシダタミガイと飼育した場合、1週間以内にすべてのカイヤドリヒラムシが産卵した。これはカイヤドリヒラムシを巻貝から取出し単独で飼育した場合にも同様であり、さらにイシダタミガイの飼育水、およびイシダタミガイ空貝殻での飼育においても1週間前後に全ての個体が産卵した。これらの事実は、カイヤドリヒラムシは巻貝の殻から出る水溶性の化学物質、イシダタミガイに由来する粘液や、その粘液から出る化学物質がカイヤドリヒラムシの産卵を抑制するわけではないことを示している。

興味深いことに容器内に石を入れた場合、カイヤドリヒラムシの30%の個体が産卵した。この場合、産卵個体のほとんどが狭い空間を形成した容器と石の面、あるいは石の下面に産卵していた。すなわちイシダタミガイが入り込めない空間で産卵が行われていた。これはカイヤドリヒラムシが産卵する場合イシダタミガイとの接触が起こらない環境下では、例えばイシダタミガイが同所的に居ても産卵が抑制されないことを示唆している。つまり、イシダタミガイからの偶発的な接触がある場合にはカイヤドリヒラムシは産卵を抑制していると考えられる。イシダタミガイを容器に固定した場合、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイと接触しているにもかかわらず産卵した事実も上述の推測と矛盾しない。

ではなぜイシダタミガイとの接触がある状況ではカイヤドリヒラムシは産卵しないのだろうか。今回の飼育実験で、巻貝はカイヤドリヒラムシの卵を食べることはなく、また巻貝の存在がカイヤドリヒラムシの卵の孵化に影響を与えることは無かった。しかし、カイヤドリヒラムシの卵は乾燥に対しては非常に弱い。カイヤドリヒラムシの主要な宿

主であるイシダタミガイは転石海岸の潮間帯を生息地としており (Takada 1995, 1996)、干潮時にも干出した潮間帯に留まっている (第 2 章)。野外でもおよそ 25 分干上がると卵が死滅してしまうのならば、潮間帯はカイヤドリヒラムシの産卵環境としては不適であると考えられる。すなわち、カイヤドリヒラムシは干潮線よりも下で産卵せねばならない。

カイヤドリヒラムシは粘液のついたイシダタミガイの腹足との接触によりこの巻貝を認識していると考えられ (第 2 章)、イシダタミガイと接触すると、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイの生息地、すなわち潮間帯にいるものと捉え、産卵を控えているのかもしれない。

カイヤドリヒラムシの親は水の外に出されると数分で死亡する。それ故、産卵のために彼らは宿主が冠水している時に宿主から出て、潮下帯へ向かうと考えられる。しかしながら、カイヤドリヒラムシがいつ、どのような状況で宿主イシダタミガイから離れるのかについては、本研究では解明できなかった。多岐腸類では自由生活をしていた種の中から他の生物と共生関係を持つ種が現れたと考えられている (Rohde 1994)。カイヤドリヒラムシが潮間帯に生息する巻貝に寄居するようになった経過、あるいは進化的な理由を明らかにするためにも、カイヤドリヒラムシの繁殖行動を野外で明らかにする必要がある。

第 6 章

総合討論

扁形動物の研究

扁形動物門 Platyhelminthes は、古くは渦虫綱 Turbellaria、吸虫綱 Cestoda、条虫綱 Trematoda から構成されていた。現在では吸虫綱に含まれていた単生目が独立して綱 Monogenea として扱われるようになったため、4 つの綱を含むようになった。

渦虫綱は海産および陸水産の種からなり、その大半は自由生活を営んでおり、中には貝類の捕食者として知られているものもいる。しかし、一部には外部・内部寄生のような生活様式をもつものもいる。吸虫綱および単生綱は内部寄生や外部寄生を、条虫綱はすべて内部寄生をし、単生綱は魚類の寄生虫として、また吸虫・条虫綱は人間をはじめとするさまざまな動物に寄生し、病気の原因となることが知られている。

本研究で扱ったカイヤドリヒラムシは渦虫綱の多岐腸目に属している。渦虫綱の仲間の体形は紐状・葉状・紡錘形など多様であるが、一般に背腹に扁平であるものが多い。大部分が雌雄同体で、有性生殖により繁殖を行うが無性生殖を行う種もいる。繊毛の運動により移動し、口は腹面にあり肛門を持たないことが特徴の 1 つである。渦虫綱には、ヒラムシの仲間から成る多岐腸目やプラナリアやコウガイビルに代表される三岐腸目が含まれる。多岐腸目の仲間は海産であり、日本をはじめ世界中で多くの種が見られ、その大半が海底の砂泥、岩礁、転石の上などを這って自由生活をしている (Newman and Cannon 2003)。多岐腸類は分類学や形態学 (Kato 1944; Kaburaki 1923; Hagiya and Gamo 1992) などさまざまな研究に用いられてきた。三岐腸類を代表するプラナリアはその高い再生能力を有するため、再生研究のモデル生物として扱われている (Rink 2013; Agata et al. 2014)。また、初期発生学においては三岐腸目と多岐腸目は螺旋卵割

のモデル生物として研究されてきた（石田 1998; 櫻井ら 1998）。このように、渦虫綱の仲間は分類学や形態学のみならず、発生学においても広く研究されている。

カイヤドリヒラムシが属する多岐腸目の大半は自由生活を営んでいるが、他の生物と密接な関係を持つ種も報告されている。例えば、日本国内では多岐腸類の一種、スチロヒラムシの仲間 *Stylochus* sp. が養殖牡蠣などの二枚貝類を好んで食害する（田中・藤原 2000）ので、水産学上も重要な種である。また、カイヤドリヒラムシのように巻貝の中（Kato 1933, 1935a, 1944; Faubel et al. 2007）や二枚貝の中（Hyman 1944, Brusa and Damborenea 2014）、ヤドカリの貝殻内（Prudhoe 1968; Jennings 1971; Lytwyn and McDermott 1976）、クモヒトデの内部（Kato 1935b; Doignon et al. 2003）などに住み着いている種もあり、生物間相互作用を扱う生態学においても興味深い対象生物群である。しかし、いずれも種の記載や形態学、遺伝発生学的な研究が行われているに過ぎず、生態学的な研究は極めて少ない。

多岐腸類と他の生物との関係については、巻貝に寄居する 1 種 *Hoploplana inquilina* が宿主の排泄物を食べる（Wheeler 1894）、クモヒトデの内部に寄生する *Discoplana takewaki* は生殖嚢内の生殖腺を餌にしていること（Kato 1935b）、ヤドカリの殻内に寄居する *Stylochus zebra* が宿主の卵を食べること（Lytwyn and McDermott 1976）等が報告されている。このように、多岐腸類は、捕食や寄生、片利共生など様々な種間関係を有する種を含んでいる。これらの種は摂餌のために一時的に貝類やヤドカリの貝殻内に侵入しているとも考えられるが、既存の報告は単純な記載に留まっており、種間関係を綿密に調べた研究はない。ヒラムシ類と他の生物との種間関係を明らかにするためには双方の生態学的な情報が必要であり、個体群動態を定量的に調べ、生活史全体を通した利害関係を明らかにする必要がある。

ヒラムシ類の生活史を推測できる唯一の野外研究としては、Lytwyn と McDermott (1976) が挙げられる。この研究では、北アメリカの大西洋沿岸の 4 カ所で、ドレッ

ジによるヤドカリ類の採集をおこない、その中に寄居しているヒラムシ *Stylochos zebra* を調べている。しかし不定期な採集のためにヒラムシの成長や密度の変化などに関する解析はおこなわれず、*S. zebra* の個体群動態や基本的な生活史特性は明らかにされていない。

自由生活をする扁形動物は、岩盤の表面や転石の下などに潜んでいることが多い (Newman and Cannon 2003)。また、柔らかい体は機械的な採集には耐えられず、定量的な採集も困難で、生態学的なデータ解析に耐えられるだけの正確なデータを得ることも難しい。Lytwyn と McDermott (1976)の研究のように、共生種ヒラムシが寄居する宿主を採集し、その中のヒラムシを扱うことはより詳細なデータを蓄積できる 1 つの方法である。

カイヤドリヒラムシは潮間帯に生息する巻貝、主にイシダタミガイの外套腔に生息しているため、宿主巻貝を採集することにより、ヒラムシにダメージを与えずに採集をすることが可能である。本研究では宿主イシダタミガイを定量的に扱うことによって、扁形動物多岐腸類の生活史と個体群動態を世界で初めて明らかにした。さらに本種の宿主利用が完全な種特異性を示さないという特徴を利用し、カイヤドリヒラムシの生態、さらに宿主選択性の発達について解明した。

カイヤドリヒラムシの生活史

北日本の陸奥湾において、カイヤドリヒラムシは夏になると繁殖期を迎える (第 4 章)。産卵に際して宿主巻貝を離れ、産卵した個体はほとんど死滅することから、その全生活史は 1 年であると考えられる。出口ら (2009) も、実験室で親のカイヤドリヒラムシは産卵後死亡することから、その寿命を 1 年と推定している。

カイヤドリヒラムシにおいては、卵内で胚が直接発生し、孵化した幼個体は飼育下では 1 週間ほどの浮遊期を経た後に底生期へと移行し、宿主巻貝に寄居するもという (出

口ら 2009; 第 4 章)。野外においては、性成熟したカイヤドリヒラムシがイシダタミガイから姿を消しておよそ 1 ヶ月後から多数の幼個体の新規寄居が認められ、その後翌年の夏まで緩やかに成長する (第 4 章)。

Lytwyn と McDermott (1976) が調べた、ヤドカリの貝殻内に寄居するヒラムシの 1 種 *Stylochus zebra* は、ヤドカリの貝殻の外でも見つかるので、自由生活を営んでいる可能性がある。Lytwyn と McDermott (1976) によれば *S. zebra* はヤドカリ *Pagurus pollicaris* の貝殻内に卵板を産み付け、卵は 14-17 日ほどで 0.3mm ほどの浮遊幼生に孵化し、ヤドカリの殻内から出ていくという。そして、再び宿主ヤドカリに寄居するようになる。このように間接発生をする *S. zebra* は浮遊幼生期に宿主を離れるが、直接発生をするカイヤドリヒラムシでは親が繁殖時に宿主を離れる点で、これら 2 種のヒラムシは異なる生活史特性を有している。

カイヤドリヒラムシの主な宿主であるイシダタミガイは潮間帯に生息している (第 2 章)。潮間帯は干潮時には乾燥するため孵化後浮遊期をもつカイヤドリヒラムシの産卵場所としては不適である (第 5 章)。そのため、親は宿主を離れて産卵しているのであろう。実際、室内実験では親ヒラムシは宿主の外、宿主による物理的接触がない状況下で産卵した (第 5 章)。潮だまりに生息するイシダタミガイは干潮時でも水中にいたので (第 2 章)、カイヤドリヒラムシは潮下帯に移動して産卵しているのであろう。すなわち、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイからの接触があるところを潮間帯として捉え、産卵を抑制している可能性がある。一方、*S. zebra* は潮下帯に生息するヤドカリを宿主としているので、その貝殻内に産卵しても干上がることは無い。このように宿主の生息場所の違いも多岐腸類の生活史特性に強く影響を及ぼしているのかもしれない。

Rawlinson ら (2011) は水槽で飼育されているサンゴを食べることで知られる多岐腸類の 1 種 *Amakusaplana acroporae* を研究している。*A. acroporae* はサンゴに直接卵板を産みつけ、胚は卵板のカプセルの中で幼生期を経て成体の形態になって孵化する。

それらの幼個体はサンゴ骨格の中を遊泳することで捕食をまぬがれ、また成長するとサンゴに擬態して捕食を回避するという (Rawlinson et al. 2011)。したがって *A. acroporae* は、カイヤドリヒラムシや *S. zebra* とは異なり、全生活史をとおして宿主に依存した生活史を有している。

多岐腸類においては、幼個体は成体と同じ形状で孵化する直接発生 (direct development) と、胚内で幼生形態を経て成体の形状となって孵化する中間発生 (intermediate development)、幼生 (ミューラー幼生またはゲッテ幼生) として孵化する間接発生 (indirect development) が認められている (Rawlinson 2014)。Rawlinson (2014) は多岐腸類の多様な発生様式と幼生形態をこの動物群の特性の 1 つとしてとらえている。すなわち、浮遊幼生期を短縮した直接発生や中間発生をする種は宿主と密接な関係を持ち、浮遊幼生期をもつ間接発生をする種は自由生活と関係していると指摘している。胚の発生パターンの多様性が多岐腸類の生活史の多様性、ひいては他の生物との相互関係の多様性に関わっているのかもしれない (Rawlinson 2014)。しかし、多岐腸類と宿主生物との関係に関する情報はまだ極めて限られている。多岐腸類が他の生物との相互関係を発達させてきた進化過程を理解するためには、宿主の生態情報をも含めた資料の蓄積が必要である。

宿主の識別

宿主と寄生や共生などの関係を持つ利用者は、宿主と他の種を識別する能力を有していなければならない。扁形動物では、陸産のコウガイビル *Platydemus manokwari* は餌生物である巻貝から出された粘液を利用して餌を探している (Iwai et al. 2009)。また、三岐腸類では同種の体液を感知し、危機回避に役立てていると考えられている (Collins and Gerald 2008)。また、扁形動物 *Notoplana acticola* では体の前域で餌を

感知していることが行動学的に示されている (Koopowitz et al. 1976)。これらの一連の研究は扁形動物も化学物質を重要なシグナルとして利用していることを示している。

本調査地である北日本では、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイに強い宿主選択性を示した (第 2 章、第 3 章)。また、宿主選択実験と産卵実験によりカイヤドリヒラムシは化学物質の存在だけで宿主の認識をおこなっておらず、化学物質と宿主との接触、すなわち触覚の 2 つを併用して宿主巻貝を識別していることが示唆された (第 3 章、第 5 章)。潮間帯の巻貝は腹足から粘液を出して、動き回る (Hutchinson et al. 2007)。そのため彼らの生息場所には宿主巻貝の粘液が広く分布している。この岩盤や転石の表面に付着した宿主の粘液からは水溶性の成分が溶出してくる。したがって生息地に宿主由来の物質が広く存在するようになるため、化学物質のみだけではカイヤドリヒラムシは宿主を探索することが困難となる。それゆえ、宿主との接触といった物理的な刺激も宿主認知の手掛かりとなっているのかもしれない。

一般に、扁形動物は三胚葉性の左右相称動物の中で最も単純な体制を持つ動物群である。この動物は触覚、視覚、平衡感覚、化学感覚などをもち、水流や重力などにも反応する (内田 1965)。内田 (1965) は寄生性の多岐腸類は宿主を探索する時に化学感覚を駆使していると考えている。本研究では、カイヤドリヒラムシが宿主を識別する際には、化学感覚だけでなく触覚の感覚を併用していること示唆されており、多岐腸類の宿主の識別にはより複雑な機構が関与しているのであろう。

ウニ *Tripneustes gratilla* を宿主として利用するエビの 1 種 *Gnathophylloides mineri* においては、視覚だけでも、また化学物質だけでも宿主を認識できることが分かっている (Williamson et al. 2012)。このエビの 1 種では、視覚と化学物質の両方の刺激が存在するとより早く宿主を見つけることができるという。しかし視覚刺激と化学刺激の相対的な重要性は明らかにされていない (Williamson et al. 2012)。他種との共

生関係を持つ海産無脊椎動物の宿主認識にはいくつもの感覚が利用されているのかもしれない。

種間関係の形成

S. zebra は飼育下ではヤドカリの卵を食べるが、ヤドカリの貝殻に付着しているカサガイの1種 *Crepidula plana* も捕食する (Lytwyn and McDermott 1976)。このことは、*S. zebra* はヤドカリに寄居することで餌資源の供給を受け、また捕食からの回避という利点もあるので、宿主への依存度は高いと考えられる。一方、カイヤドリヒラムシは餌資源を宿主に依存しておらず、宿主の外で餌を摂っている (第4章)。したがって、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイの貝殻を生息場所として利用しながら、半自由生活を営んでいるといえる。

本研究において、カイヤドリヒラムシは宿主巻貝が生息する環境が異なると、その寄居率や寄居個体数、個体長に違いが生じることがわかった (第2章)。これらの違いには、カイヤドリヒラムシが半自由生活をおこなっていることが関係している。すなわち、潮だまりと転石を比較した場合、潮だまりでは干潮時にもイシダタミガイは水の中にいるが、転石では干上がった石の上にいる。潮だまりのような干潮時にも水がはけることのない環境条件下では、浸水時に活動するカイヤドリヒラムシにとって宿主巻貝に寄居できる機会は多くなる。また、宿主から出て餌を得る機会も多くなるので、より高い成長率を得られることができると考えられた。このような生息環境の違いとその違いに応じた宿主巻貝の生態的な特徴がカイヤドリヒラムシの成長や定着、生残に影響を与えているのだろう。

寄生や共生、片利共生などの種間関係においては、様々な動物群を対象とした利用者—宿主間の相互関係について研究がおこなわれてきた。しかし、どのようにして利用者—宿主の関係が生じるようになったかを明らかにした研究は少ない。本研究では、カイ

ヤドリヒラムシの主要宿主であるイシダタミガイと同所的に見られる潜在的宿主巻貝の生態と行動、さらにカイヤドリヒラムシの罹患率、および1個体の宿主に寄居していたカイヤドリヒラムシの個体数との関係を解析して、カイヤドリヒラムシがイシダタミガイを主要宿主として利用するようになったプロセスについて仮説を提出した。すなわち、カイヤドリヒラムシは潮下帯の高い捕食圧から逃れるために潮間帯に進出した際に巻貝に住み着く生活様式を獲得したとい仮説である。潮間帯は潮汐により干潮時に乾燥するため、乾燥から身を守る外的構造を持たないカイヤドリヒラムシにとって生存には適さない。しかし、そこには干潮時にも自身の鰓呼吸のために貝殻の中に水を蓄えているイシダタミガイがいる。カイヤドリヒラムシは乾燥から身を守るために新たな生息場所として潮間帯に生息する巻貝を利用するようになったのだろう。

ヤドカリに寄居する *S. zebra* は主に *P. pollicaris* で見られるが、カイヤドリヒラムシと同様に、他の潜在的宿主ヤドカリの中にも見られ、完全な種特異性を示さない (Lytwyn and McDermott 1976)。地域により利用するヤドカリに違いが見られるが、いずれの調査地点でも潮下帯に生息するヤドカリを主要な宿主として利用しており、潮間帯に生息するヤドカリは利用していないという (Lytwyn and McDermott 1976)。ヤドカリは巻貝と違い殻内に水分を保持することはできない。乾燥に弱いヒラムシにとっては、潮間帯に生息するヤドカリは宿主として利用できないのかもしれない。これら2種のヒラムシの研究は、捕食や被食のような生物間相互作用や利用する宿主生物の生態や行動などの生物学的要因と、水分環境や乾燥の有無のような非生物学的な環境要因が複雑に絡み合いながら寄生や共生関係の成立に強く作用してきたことを示すよい例と言えるだろう。

カイヤドリヒラムシが属する扁形動物門多岐腸目に関する生態学的な知見は極めて乏しい。本研究では潮間帯の巻貝に片利共生をするカイヤドリヒラムシの研究を行うことで、これまで明らかにされてこなかった多岐腸類の生態学的な知見を得ることができ

た。このような研究は、水産学において有害動物として知られる自由生活の多岐腸類の生活史や個体群動態の解明の端緒となり、さらには食害の防除へと発展できるものと考えられる。また、カイヤドリヒラムシと宿主イシダタミガイの種間関係の解明をとおして、種特異的な宿主－利用者関係を持たない寄生・共生関係が、特異的な生物相互作用が生じるメカニズムを解明することに有効であることを示した。

摘要

青森県陸奥湾の夏泊半島において、潜在的宿主巻貝の生息環境と、カイヤドリヒラムシの宿主利用の関係について調べた。夏泊半島の潮間帯の 10 か所で調査・採集をおこなった。調査地は大きく転石、岩礁、岩礁転石、潮溜まりの 4 つの環境に分けられた。コドラート法による定量採集調査の結果、イシダタミガイ *Monodonta labio confusa*、クロヅケガイ *Monodonta neritoides*、ヘソアキクボガイ *Chlorostoma turbinata*、コシダカガンガラ *Omphalius rusticus*、スガイ *Turbo coreensis*、タマキビガイ *Littorina brevicula* の 6 種類の潜在的宿主巻貝が得られた。このうち、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイを主要な宿主として利用しており、水気の多い環境では寄居個体数が多くなることがわかった。また、野外で潜在的宿主巻貝の行動を観察した結果、イシダタミガイは潮間帯を生息域として利用し、ヘソアキクボガイ・コシダカガンガラは潮下帯、タマキビガイは潮上帯で活動していた。このように潜在的宿主巻貝の生態的違いが認められた。

カイヤドリヒラムシの宿主選択性を明らかにするため、実験室内において潜在的宿主巻貝各種を組み合わせた選択実験をおこなった。カイヤドリヒラムシはどの潜在的宿主巻貝との組み合わせにおいてもイシダタミガイに多く寄居した。また、宿主の利用が潜在的宿主巻貝の形態的な違いに起因しているのかどうかを明らかにするために、カイヤドリヒラムシに生息空間を提供している外套膜の長さを比較した。潜在的宿主巻貝の間では殻径に対する相対的な外套膜の長さは異なっており、他の巻貝よりもイシダタミガイで長かった。しかし、外套膜の絶対的な最大の長さはイシダタミガイ、ヘソアキクボガイ、コシダカガンガラの間で変わらなかった。外套膜の長さの違いを補正して行った選択実験は、カイヤドリヒラムシがイシダタミガイを選択的に利用することを示した。これらの結果から、宿主巻貝の外套膜の長さなどの形態的な違いはカイヤドリヒラムシ

の宿主の選択に影響していないことが判明した。また、野外においてイシダタミガイでの寄居率と寄居個体数が高いことから、カイヤドリヒラムシが巻貝に寄居する習性は潮間帯で獲得されたと考えられた。

青森県平内町茂浦の青森県産業技術センター水産総合研究所近くの転石、および潮だまりでカイヤドリヒラムシの食性および個体群動態をイシダタミガイの個体群動態と合わせて調べた。カイヤドリヒラムシが利用している餌資源を明らかにするために転石、および潮だまりにおいて潜在的餌資源とカイヤドリヒラムシの安定同位体解析を行った結果、カイヤドリヒラムシとイシダタミガイはほぼ同じ栄養段階にいることがわかった。このことは、カイヤドリヒラムシはイシダタミガイ自体、またその粘液や排泄物などを餌資源としていないということを意味し、1次生産者を同化していると考えられる。つまりカイヤドリヒラムシはイシダタミガイに餌資源を依存しておらず、イシダタミガイの外で餌を摂っているということがわかった。

カイヤドリヒラムシの産卵数および卵サイズ、カイヤドリヒラムシの個体長や寄居率、また寄居個体数の季節変化を3年にわたり調べたところ、カイヤドリヒラムシは夏になると繁殖期を迎え、宿主巻貝を離れ産卵し、産卵した個体はほとんど死滅することから、そのライフサイクルは1年であると考えられた。野外においては、両環境ともに9月頃から多数の幼個体の新規寄居が認められ、その後翌年の夏まで緩やかに成長することが明らかになった。しかし、カイヤドリヒラムシの寄居個体数は転石に比べ潮だまりで多く、特に幼個体の加入時期に著しかった。また、新規加入した直後のカイヤドリヒラムシの幼個体の大きさは、両環境間において違わなかったが、新規加入後1ヶ月の間における幼個体の成長率は転石に比べ潮だまりで高くなった。カイヤドリヒラムシの大きさと産卵数には相関が見られたが、親個体の大きさにかかわらず卵の大きさに違いは見られなかったことから、カイヤドリヒラムシは体サイズを大きくして産卵数を増やすという繁殖戦略を持っていることが示唆された。

宿主巻貝あたりのカイヤドリヒラムシの総卵数は潮だまりにおいては 2011 年で 2250 個、2012 年で 2700 個、転石においては 2011 年で 900 個、2012 年で 400 個と推定された。さらに、幼個体の新規寄居率を求めたところ、2011 年の転石ではおよそ 0.71%、潮だまりではおよそ 1.52%の個体がイシダタミガイに新たに寄居したと推定された。また、2012 年には、転石で 1.75%、潮だまりで 3.03%となり、転石に比べて潮だまりの方がより多くの個体が宿主へと戻ってきていると推定された。しかし 2011 年から 2012 年にかけての生残率は転石では 12.19%、潮だまりでは 6.34%であり、転石の方で高くなる傾向が見られた。これらのことから、転石と潮だまりの 2 つの環境間においては、潮だまりで寄居個体数や体サイズが大きくなり、多くの卵を生産し、さらに新規寄居個体数も多いものの、新規寄居後の死亡率が高いので、新たに生まれた 1 個体が残すことのできる子孫の数には大きな違いはないものと考えられた。

カイヤドリヒラムシの産卵条件を明らかにするため、繁殖期である夏期に青森県陸奥湾でカイヤドリヒラムシを採集し、様々な条件下で 4 週間飼育し、産卵に至るまでの日数を記録した。カイヤドリヒラムシは、海水のみ、海水中にイシダタミガイの殻を入れた、およびイシダタミガイを飼育水した海水、また海水中でイシダタミガイを吊るして飼育した条件下では 1 週間以内にすべての個体が産卵した。また、イシダタミガイを容器内に固定、ヘソアキクボガイ、コシダカガンガラ、タマキビガイなど潜在的宿主巻貝と一緒に飼育した場合、最終的に 6—8 割の個体が産卵した。しかし、転石とイシダタミガイを容器内に入れて飼育した場合、およそ 2 割の個体しか産卵はおこなわず、イシダタミガイと共に飼育した場合ではカイヤドリヒラムシは全く産卵しなかった。また、外的要因がカイヤドリヒラムシの卵の生残に与える影響を調べるため、巻貝と卵板と一緒に飼育したところ、巻貝の存在はカイヤドリヒラムシの卵板の孵化には影響しないことが示された。さらに、産み付けられた卵の乾燥に対する耐性を評価したところ、乾燥状態では 20 分ほどで胚が死滅してしまうことがわかった。以上のことからカイヤドリ

ヒラムシは産卵の際には宿主を離れ、イシダタミガイが存在しない環境、干潮時にも乾燥にさらされることのない潮下帯で産卵していると考えられた。

謝辞

本博士論文は、筆者が東北大学大学院生命科学研究科生命機能科学専攻博士後期課程在学中に海洋生態行動学分野において行った研究をまとめたものです。本研究をおこなうにあたり、終始ご指導ご鞭撻、心温かい数々のご支援を頂きました本学占部城太郎教授に心より感謝申し上げます。本論文の審査過程におきまして、有用なコメントを頂きました本学千葉聡教授、熊野岳教授、鈴木孝男博士に厚く御礼申し上げます。また、本研究を進めるにあたり、論文の執筆、そして調査の実施や研究に関して温かくご指導ご鞭撻を頂き、大学院在学中における研究・生活を支えてくださいました本学武田哲博士に心より感謝申し上げます。また安定同位体解析にあたっては、山梨大学生命環境学部環境科学科岩田智也准教授にご協力頂き、宮城教育大学理科教育講座出口竜作教授には本研究で扱ったカイヤドリヒラムシに関する数々の有益なるご教示を頂きました。厚く御礼申し上げます。野外調査や統計解析に協力して頂いた同分野後輩の富永伸人君に感謝いたします。また、数々のご協力と有益なご助言を頂きました群集生態研究室の皆様、そして研究活動のみならず生活面においても長い間大変お世話になりました本学美濃川拓哉准教授、曾我部篤博士、浅虫海洋生物学教育研究センターの皆様に厚く御礼申し上げます。本研究の一部は、東北大学生態適応グローバル COE の支援によります。最後になりますが、研究生生活を続けるにあたって、多大な経済的援助そして理解と愛情を持って支えてくれた両親、家族に心より感謝申し上げます。

引用文献

- Agata K, Tasaki J, Nakajima E, Umesono Y (2014) Recent identification of an ERK signal gradient governing planarian regeneration. *Zoology* 117: 161–162
- Angelon KA, Petranks JW (2002) Chemicals of predatory mosquitofish (*Gambusia affinis*) influence selection of oviposition site by *Culex* mosquitoes. *J Chem Ecol* 28: 4
- Branch GM, Branch M (1981) The living shores of southern Africa. C Struik, Cape Town
- Brooks WR (1988) The influence of the location and abundance of the sea anemone *Calliactis tricolor* (Le Sueur) in protecting hermit crabs from octopus predators. *J Exp Mar Biol Ecol* 116: 15–21
- Brusa F, Damborenea C (2014) A new polyclad species associated with *Bankia martensi* (Bivalvia) from the South Pacific coast of Chile, and its taxonomic position within Euplanidae (Platyhelminthes, Ilyplanioidea). *J Mar Biol Assoc UK* 94: 167–176
- Collins AM, Gerald GW (2008) Attraction of flatworms at various hunger levels toward cues from an odonate predator. *Ethology* 115: 449–456
- Connell JH (1972) Community interactions on marine rocky intertidal shores. *Ann Rev Ecol Sys* 3: 169–192
- Dalby JE (1996) Nemertean, copepod, and amphipod symbionts of the dimorphic ascidian *Pyura stolonifera* near Melbourne, Australia: specificities to host morphs, and factors affecting prevalences. *Mar Biol* 126: 231–243
- 出口竜作・佐々木博成・岩田薫・越前恵 (2009) カイヤドリヒラムシの生殖とライフサイクル。宮城教育大学紀要 44: 53–61
- DaWitt PD, Williams BW, Lu ZQ, Fard AN, Gelder SR (2013) Effect of environmental and host physical characteristics on an aquatic symbiont. *Limnologia* 43: 151–156

- Doignon G, Artois T, Deheyn D (2003) *Discoplana malagasensis* sp nov, a new turbellarian (Platyhelminthes : Polycladida : Leptoplanidae) symbiotic in an ophiuroid (Echinodermata), with a cladistic analysis of the *Discoplana/Euplana* species. *Zool Sci* 20: 357–369
- Elliott JK, Elliot JM, Mariscal RN (1995) Host selection, location, and association behaviors of anemonefishes in field settlement experiments. *Mar Biol* 122: 377–389
- Faubel A, Sluys R, Reid DG (2007) A new genus species of polyclad flatworm found in the mantle cavities of gastropod molluscs in the high-intertidal zone of the Pacific coast of Central America. *J Mar Biol Assoc UK* 87: 429–434
- Fautin DG (1991) The anemonefish symbiosis: what is known and what is not. *Symbiosis* 10: 23–46
- Galleni L, Tongiorgi P, Ferrero E, Salghetti U (1980) *Stylochus mediterraneus* (Turbellaria: Polycladida), predator on the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Biol* 55: 317–326
- Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M, Roslin T (2010) A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecol Lett* 13: 383–393
- Hagiya M, Gamo S (1992) Polyclads (Platyhelminthes) collected from the intertidal rocky shore at Manazuru, Sagami Bay. *Stu Rep Yokohama Nat Uni* 8: 13–24
- Heath H, McGregor EA (1912) New polyclads from Monterey Bay, California. *Proc Acad nat Sci Philad* 64: 455–488
- Hirayama H, Kasuya E (2009) Oviposition depth in response to egg parasitism in the water strider: high-risk experience promotes deeper oviposition. *Anim Behav* 78: 935–941
- Hirayama H, Kasuya E (2013) Effect of adult females' predation risk on oviposition site selection in a water strider. *Entomol Exp Appl* 149: 250–255
- Hirayama H, Kasuya E (2014) Potential costs of selecting good sites for offspring: increased

- risk of drowning and negative effects on egg production. *Ethol* 120: 1228–1236
- Holbrook SJ, Schmitt RJ (2005) Growth, reproduction and survival of a tropical sea anemone (Actiniaria): benefits of hosting anemonefish. *Coral Reefs* 24: 67–73
- Houlihan DF, Innes AJ, Dey DG (1981) The influence of mantle cavity fluid on the aerial oxygen consumption of some intertidal gastropods. *J Exp Mar Biol Ecol* 49: 57–68
- Hutchinson N, Davies MS, Ng JSS, Williams GA (2007) Trail following behaviour in relation to pedal mucus production the intertidal gastropod *Monodonta labio* (Linnaeus). *J Exp Mar Biol Ecol* 349: 313–322
- Hyman LH (1944) A new Hawaiian polyclad flatworm associated with teredo. *Occasional papers of Bernice P. Bishop Museum* 18(4): 73–75
- Hyman LH (1967) *The Invertebrates: 6, Mollusca: 1*. McGraw H, New York
- 石田幸子 (1988) 海産プラナリア多岐腸類の発生。プラナリアの形態分化—基礎から遺伝子まで—(手代木渉・渡辺憲二編) 共立出版: 241–258
- 井上民二・加藤真 (1993) 花に引き寄せられる動物—花と送粉者の共進化 平凡社
- Iwai N, Sugiura S, Chiba S (2010) Prey-tracking behavior in the invasive terrestrial planarian *Platydemus manokwari* (Platyhelminthes, Tricladida). *Naturwissenschaften* 97: 997–1002
- 内田亨(1965) 動物系統分類学 3。中山書店 東京
- Jennings JB (1971) Parasitism and commensalism in the Turbellaria. *Adv Parasitol* 9: 1–32
- Kaburaki T (1923) Notes on Japanese Polyclad Turbellarians. *Anno Zool Japonensis* 10: 192–201.
- Kadlec D, Simkova A, Jarkovsky J, Gelnar M (2003) Parasite communities of freshwater fish under flood conditions. *Parasitol Resear* 89: 272–283
- Kato K (1933) On *Stylochoplana pusilla* Bock. *Doubutugaku Zasshi* 45: 487–490 [in Japanese]
- Kato K (1935a) *Stylochoplana parasitica* sp. nov., a polyclad parasitic in the pallial groove of

- the chiton. *Anno Zool Japonensis* 15: 123–129
- Kato K (1935b) *Discoplana takewaki* sp. Nov., a polyclad parasitic in the genital bursa of the Ophiuran. *Anno Zool Japonensis* 15: 149–157
- Kato K (1944). Polycladida of Japan. *Journal of the Sigenkagaku Kenkyusyo*. 1: 257–318
- Kato K (1965) *Stylochoplana pusilla* Bock. In Okada, K (ed). New illustrated encyclopedia of the fauna of Japan 1: 324
- Koopowitz H, Silver D, Rose G (1976) Primitive nervous systems. Control and recovery of feeding behavior in the polyclad flatworm, *Notoplana acticola*. *Biol Bull* 150: 411–425
- Lam KKY (2002) Escape responses of intertidal gastropods on a subtropical rocky shore in Hong Kong. *J Moll Stud* 68: 297–306
- Littlewood DTJ, Marsbe LA (1990) Predation on cultivated oysters, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding), by the polyclad turbellarian flatworm, *Stylocheilus (Stylocheilus) frontalis* Verrill. *Aquaculture* 88: 145–150
- Lytwyn MW, McDermott JJ (1976) Incidence, reproduction and feeding of *Stylocheilus zebra*, a polyclad turbellarian symbiont of hermit crabs. *Mar Biol* 38: 365–372
- MacGinitie GE, MacGinitie (1968) Natural history of marine animals. MacGraw-Hill, New York: 523 pp
- Mariscal RN (1970) The nature of the symbiosis between Indo-Pacific anemonefishes and sea anemones. *Mar Biol* 6: 58–65
- Martin-Duran JM, Egger B (2012) Developmental diversity in free-living flatworms. *EvoDevo* 3: 7
- Martinez G, Soler R, Dicke M (2013) Behavioral ecology of oviposition-site selection in herbivorous true bugs. *Adv Study Behav* 45: 175–207
- Menge BA, Branch GM (2001) Rocky intertidal communities. In: Bertness MD, Gaines SD,

- Hay ME (eds) Marine community ecology. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, pp 221–252
- Mestre A, Monros JS, Mesquita-Joanes F (2014) The influence of environmental factors on abundance and prevalence of a commensal ostracod hosted by an invasive crayfish: are ‘parasite rules’ relevant to non-parasitic symbiont? *Freshwater Biol* 59: 2107–2121
- Miyagawa K, Odoriba S, Okabe D, Baba Y, Touma H, Takemoto A, Yamanishi N, Matsuzaki S, Nagata S, Kanaya Y, Wakai M, Koyanagi H, Igei H, Nakazatochief M, Miyahara H, Uchida S (2014) Embryonic learning of chemical cues via the parents’ host in anemonefish (*Amphiprion ocellaris*). *J Exp Mar Biol Ecol* 457: 160–172
- Newman LJ, Cannon LRG (2003) Marine flatworms: the world of polyclads. Coolingwood: CSIRO Publishing
- Perez KO, Carlson RL, Shulman MJ, Ellis JC (2009) Why are intertidal snails rare in the subtidal? Predation, growth and the vertical distribution of *Littorina littorea* (L.) in the Gulf of Maine. *J Exp Mar Biol Ecol* 369: 79–86
- Poulin R (2007) Evolutionary Ecology of Parasites, 2nd edn. Prenceton Univ Press, Princeton, NJ
- Prudhoe S (1968) A new polyclad turbellarian associating with a hermit crab in the Hawaiian Islands. *Pacif Sci* 22: 408–411
- R Development Core Team (2005) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Rawlinson KA (2014) The diversity, development and evolution of polyclad flatworm larvae. *EvoDevo* 5: 9
- Rawlinson KA, Gillis JA, Billings RE, Borneman EH (2011) Taxonomy and life history of the

- Acropora-eating flatworm *Amakusaplana acroporae* nov. sp. (Polycladida: Prosthiostomidae). Coral Reefs 30: 693–705
- Reese ES (1968) Annual breeding seasons of three sympatric species of tropical intertidal hermit crabs, with a discussion of factors controlling breeding. J Exp Mar Biol Ecol 2: 308–318
- Refsnider JM, Janzen FJ (2010) Putting eggs in one basket: ecological and evolutionary hypotheses for variation in oviposition site choice. Annu Rev Ecol Evol Syst 41: 39–57
- Rink JC (2013) Stem cell systems and regeneration in planaria. Dev Genes Evol 223:67–84
- Rohde K (1994) The origins of parasitism in the Platyhelminthes. Int J Parasitol 24, 1099–1115
- Ross DM (1960) The association between the hermit crab *Eupagurus bernhardus* (L.) and the sea anemone *Calliactis parasitica* (Couch). Proc Zool Soc 134: 43–57
- Ross DM, Sutton L (1961) The association between the hermit crab *Dardanus arrosor* (Herbst) and the sea anemone *Calliactis parasitica* (Couch). Proc R Soc Lond Ser B Biol Sci 155: 282–291
- 櫻井隆繁・石田幸子・手代木渉 (1998) 淡水生プラナリアの胚発生と分化。プラナリアの形態分化—基礎から遺伝子まで— (手代木渉・渡辺憲二編) 共立出版: 90–222
- Schlechter V (1943) Two flatworms from the oyster-drilling snail *Thais floridana haysae* Clench. J Parasitol 29: 362
- Sreeraj CR, Raghunathan C (2013) Pseudocerotid polyclads (Platyhelminthes, Turbellaria, Polycladida) from Andaman and Nicobar Islands, India. Proc Int Acad Ecol Envir Sci 3: 36–41
- Summers K, McKeon S, Sellars J, Keusenkothen M, Morris J, Gloeckner D, Pressley C, Price B, Snow H (2003) Parasitic exploitation as an engine of diversity. Biol Rev 78: 639–675
- Takada Y (1995) Variation of growth rate with tidal level in the gastropod *Monodonta labio* on a

- boulder shore. Mar Ecol Prog Ser 117, 103–110
- Takada Y (1996) Vertical migration during the life history of the intertidal gastropod *Monodonta labio* on a boulder shore. Mar Ecol Prog Ser 130: 117–123
- Thompson JN (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. Entomol Exp Appl 47: 3–14
- 田中雅幸・藤原正夢(2000) イワガキ稚貝に対するヒラムシの捕食について。京都府立海洋センター研究報告 22: 6–9
- 手代木渉・石田幸子 (1988) 扁形動物（渦虫類）。海産無脊椎動物の発生実験（石川優・沼宮内隆晴編）培風館: 52–69
- Wheeler WM (1894) *Planocera inquilina*, a polyclad inhabiting the branchial chamber of *Sycotypus canaliculatus*, gill. J Morphol 9: 195–201
- Williamson JE, Gleeson C, Bell JE, Vaitilingon D (2012) The role of visual and chemical cues in host detection by the symbiotic shrimp *Gnathophyllodes mineri*. J Exp Mar Biol Ecol 414-415: 38–43

図一覧

第二章

Fig. 2-1 Map of Natsudomari peninsula in Mutsu Bay, north Japan, showing study sites

Fig. 2-2 Condition of study sites divided into four categories (B: boulder; R: rock; BR: boulder rock; TP: tide pool)

Fig. 2-3 Potential host snails

Fig. 2-4 Relative height of water surface (line) and adhesion position of *Monodonta labio* (bar) on Jetty 1

Fig. 2-5 Prevalence of *Stylochoplana pusilla* (line) and frequency distribution of shell diameter of *Monodonta labio* (bar) (A: boulder; B: rock; C: boulder-rock; D: tide pool)

Fig. 2-6 Number of *Stylochoplana pusilla* per *Monodonta labio* at each of the study sites (boulder: B1, B2, B3; rock: R1, R2; boulder-rock: BR1, BR2; tide pool: TP1, TP2, TP3)

第三章

Fig. 3-1 Mantle length of snail species plotted against shell diameter. For each species, a regression line was inserted (*Monodonta labio*: $r = 0.8694$, $P < 0.05$; *Chlorostoma turbinatum*: $r = 0.9439$, $P < 0.05$; *Omphalius rusticus*: $r = 0.9444$, $P < 0.05$; *Littorina brevicula*: $r = 0.7528$, $P < 0.05$)

Fig. 3-2 Number of *Stylochoplana pusilla* found in the snails in the experiment (A) with unfixed snails, (B) with fixed snails, and (C) fixed snails of the same mantle length

第四章

Fig. 4-1 Photos showing environmental condition at study sites (A: boulder and B: tide pool)

Fig. 4-2 (A) non-matured *Stylochoplana pusilla* (non-breeding season) and (B) matured *S. pusilla* (breeding season), scale bars, 0.5 mm

Fig. 4-3 An egg plate of *Stylochoplana pusilla*, scale bar 0.5 mm

Fig. 4-4 Result of Stable isotope analysis (\pm SD) for *Stylochoplana pusilla* body tissue, *Monodonta labio* body tissue, excrement of *M. labio*, and periphytic material collected at the boulder or tide pool sites

Fig. 4-5 Seasonal variations in the abundance of *Monodonta labio* with a shell diameter >12 mm

Fig. 4-6 Seasonal variations in the prevalence of *Stylochoplana pusilla* at each study site.

Significant difference between the two sites at each sampling date via a Fisher's exact probability test ($P=0.05$) is denoted by an asterisks

Fig. 4-7 Seasonal variations in the abundance (\pm SD) (A) and length (\pm SD) (B) of each *Stylochoplana pusilla* cohort at each study site. Significant differences between the two sites at each sampling date by a Tukey test ($P= 0.05$) are denoted by an asterisk

Fig. 4-8 Seasonal changes in the length of *Stylochoplana pusilla* at the boulder site

Fig. 4-9 Seasonal changes in the length of *Stylochoplana pusilla* at the tide pool site

Fig. 4-10 Relationship between the number of eggs and body length of spawned *Stylochoplana pusilla*

Fig. 4-11 Variations in the length of *Stylochoplana pusilla* after settlement at each study site. Significant differences between the two sites at each sampling date by a Tukey test ($P<0.05$) are denoted by asterisks

第五章

Fig. 5-1 Daily changes in the individual number of spawned *Stylochoplana pusilla* under different experimental conditions

表一覽

第二章

Table 2-1 Environmental conditions at study sites showing number of boulder layers, major-axis length of boulders, bottom substrates and water conditions

Table 2-2 Densities of potential host snails (individuals 0.25 m^{-2}) at 10 eulittoral study sites in Mutsu Bay, Japan in May–June 2010 (mean \pm SD)

Table 2-3 Shell diameter (mm) of potential host snails at each study site (mean \pm SD). Number of individuals measured are denoted by figures in parentheses

Table 2-4 Proportion (%) of potential host snail individuals distributed in vertically different areas at (A) the rock surfaces near a tide pool and (B) the wall of Jetty 1. The vertical part was categorized as above, at or below the water surface. Percentage of individuals that closed their operculum at low tide is denoted by “Shut”

Table 2-5 Prevalence (%) of *Stylochoplana pusilla* in potential host snails collected and percentage proportion of *S. pusilla* individuals in each potential host snail species relative to the total individuals collected

第四章

Table 4-1 Comparison of ecological traits and population parameters of *Stylochoplana pusilla*

between the boulder and tide pool sites

第五章

Table 5-1 Experimental conditions showing existing cues in each treatment

Table 5-2 Results of Fisher's exact test for differences in number of spawned *S. pusilla* between different conditions for the oviposition

图表

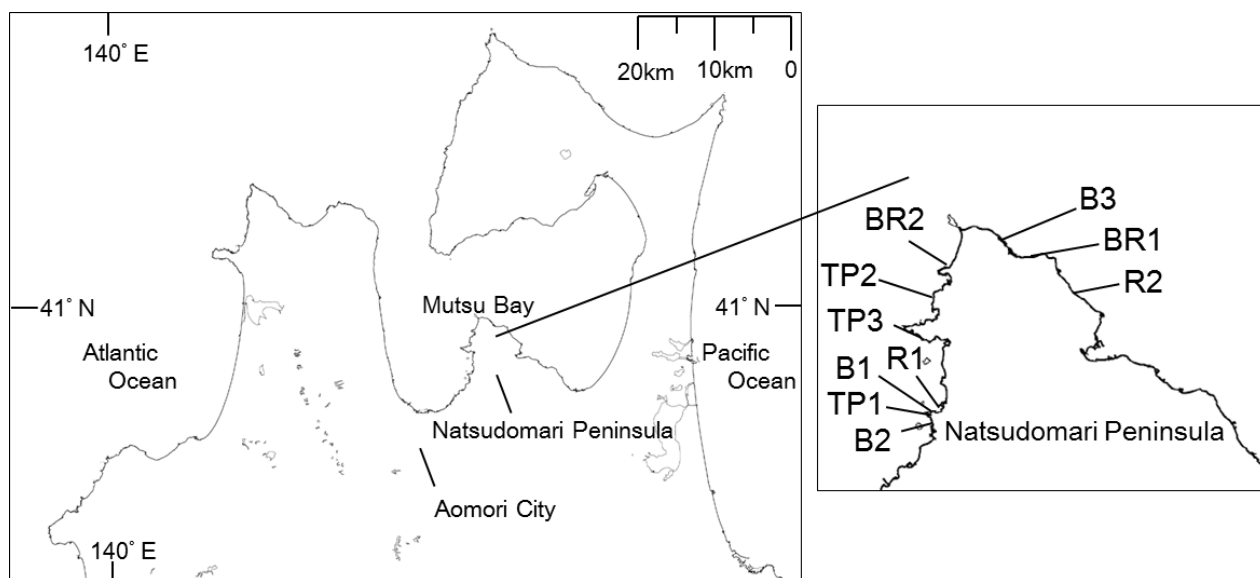


Fig. 2-1 Map of Natsudomari peninsula in Mutsu Bay, north Japan, showing study sites



B: boulder



R: rock



BR: boulder-rock



TP: tide pool

Fig. 2-2 Condition of study sites divided into four categories (B: boulder; R: rock; BR: boulder rock; TP: tide pool)



Monodonta labio



Monodonta neritoides



Chloostoma turbinatum



Omphalius rusticus



Turbinatum coreensis



Littorina brevicula

Fig. 2-3 Potential host snails

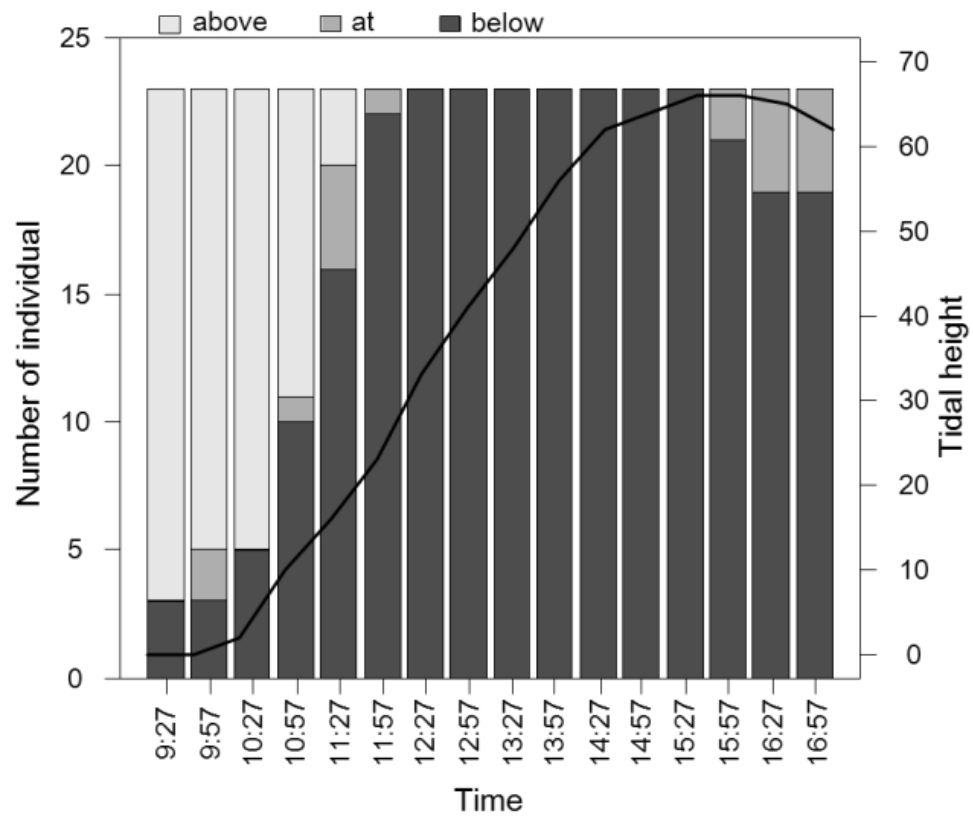


Fig. 2-4 Relative height of water surface (line) and adhesion position of *Monodonta labio* (bar) on Jetty 1

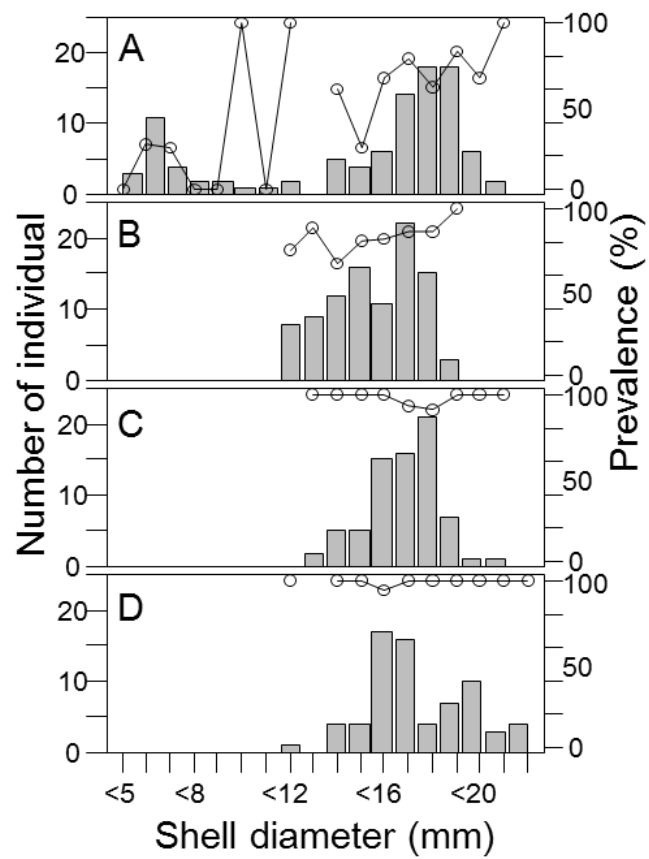


Fig. 2-5 Prevalence of *Stylochoplana pusilla* (line) and frequency distribution of shell diameter of *Monodonta labio* (bar) (A: boulder; B: rock; C: boulder-rock; D: tide pool)

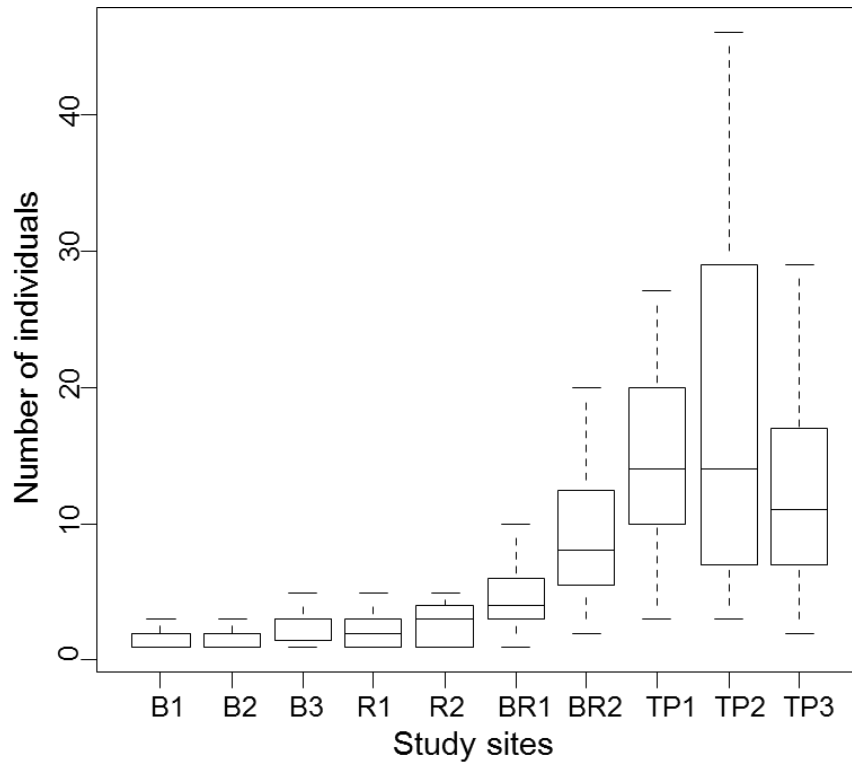


Fig. 2-6 Number of *Stylochoplana pusilla* per *Monodonta labio* at each of the study sites (boulder: B1, B2, B3; rock: R1, R2; boulder-rock: BR1, BR2; tide pool: TP1, TP2, TP3)

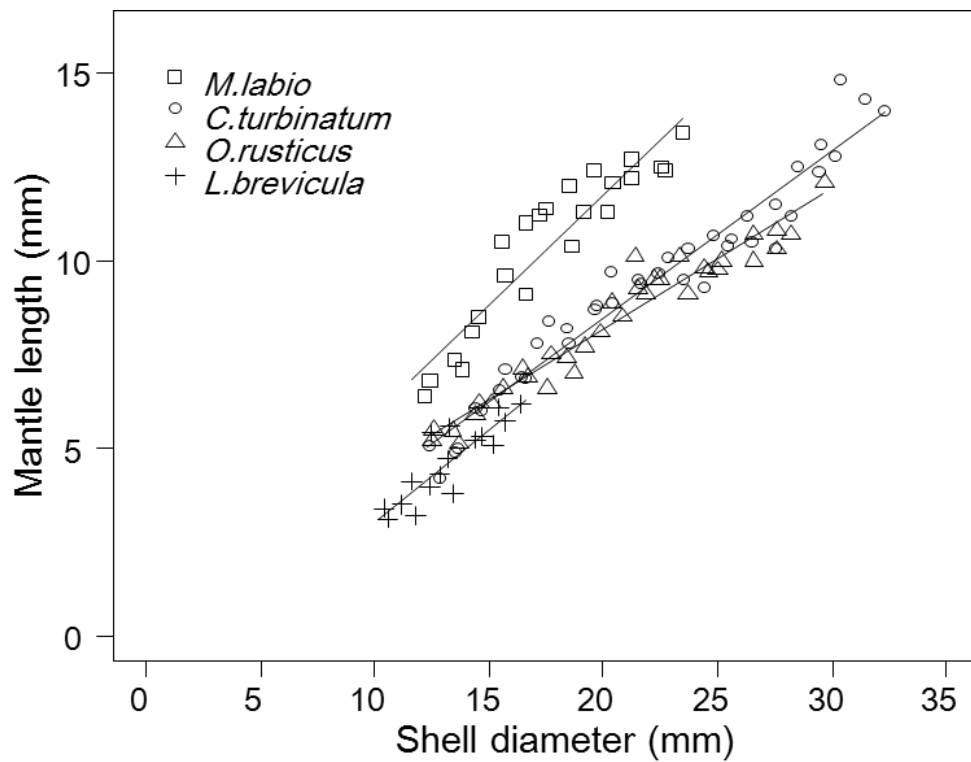


Fig. 3-1 Mantle length of snail species plotted against shell diameter. For each species, a regression line was inserted (*Monodonta labio*: $r = 0.8694$, $P < 0.05$; *Chlorostoma turbinatum*: $r = 0.9439$, $P < 0.05$; *Omphalius rusticus*: $r = 0.9444$, $P < 0.05$; *Littorina brevicula*: $r = 0.7528$, $P < 0.05$)

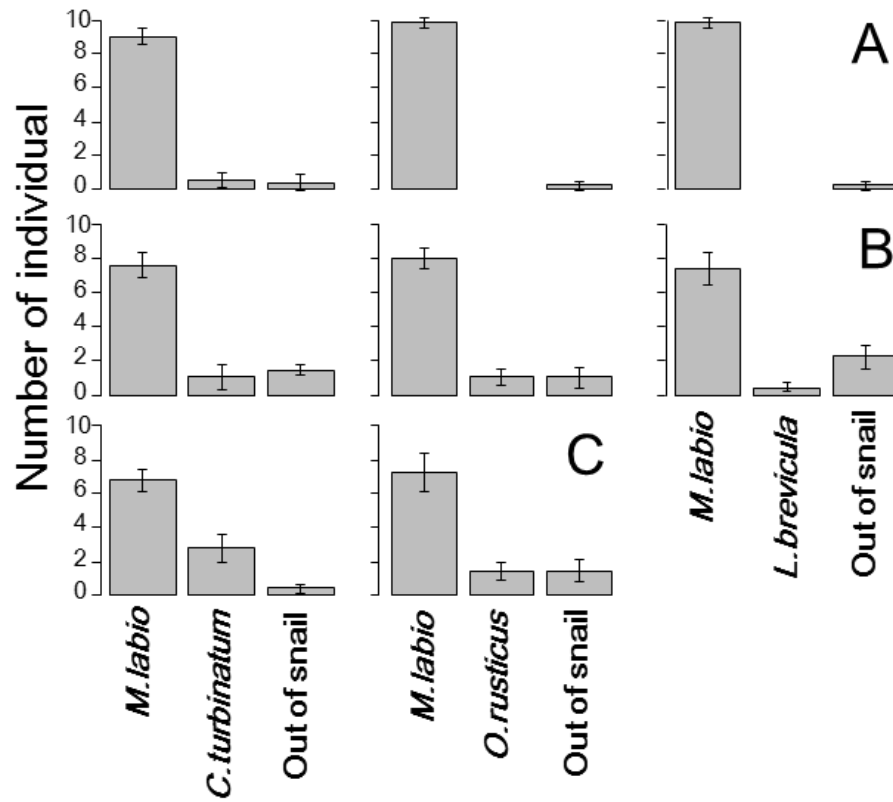


Fig. 3-2 Number of *Stylochoplana pusilla* found in the snails in the experiment (A) with unfixed snails, (B) with fixed snails, and (C) fixed snails of the same mantle length



A: boulder



B: tide pool

Fig. 4-1 Photos showing environmental condition at study sites (A: boulder and B: tide pool)

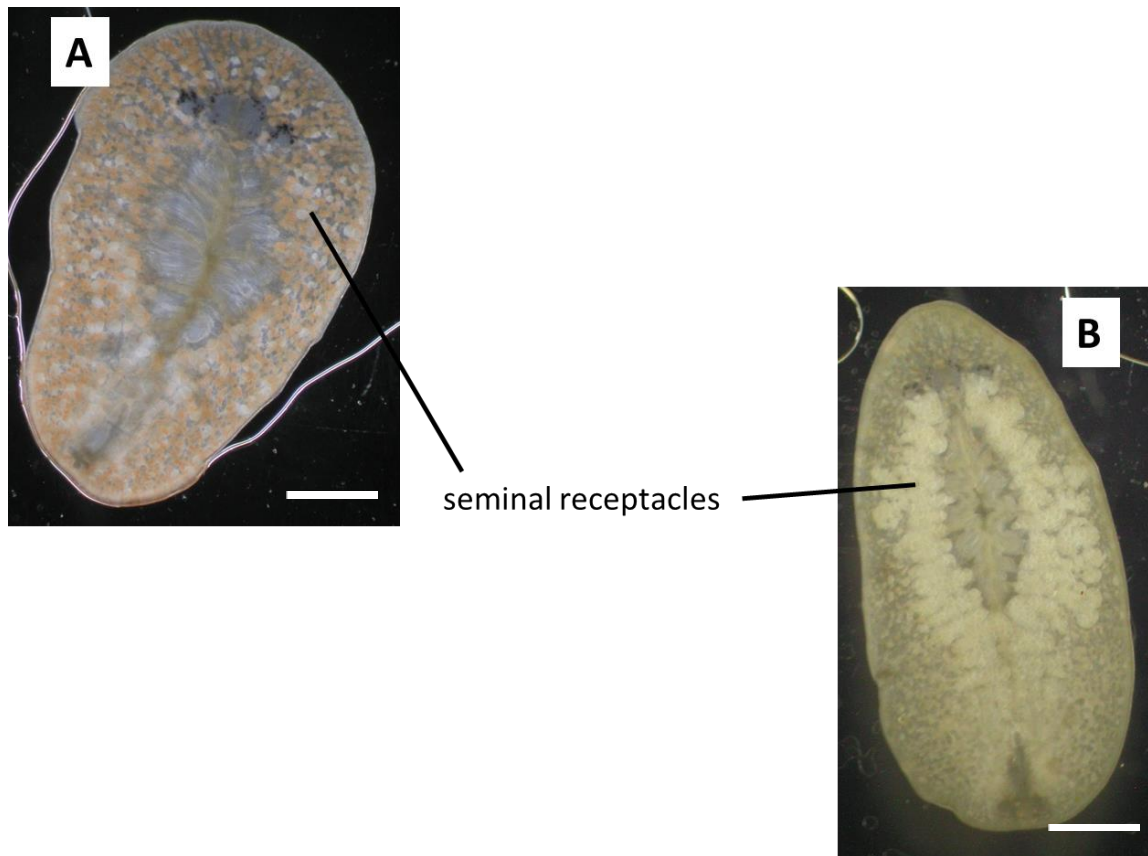


Fig. 4-2 (A) non-matured *Stylochoplana pusilla* (non-breeding season) and (B) matured *S. pusilla* (breeding season), scale bars, 0.5 mm

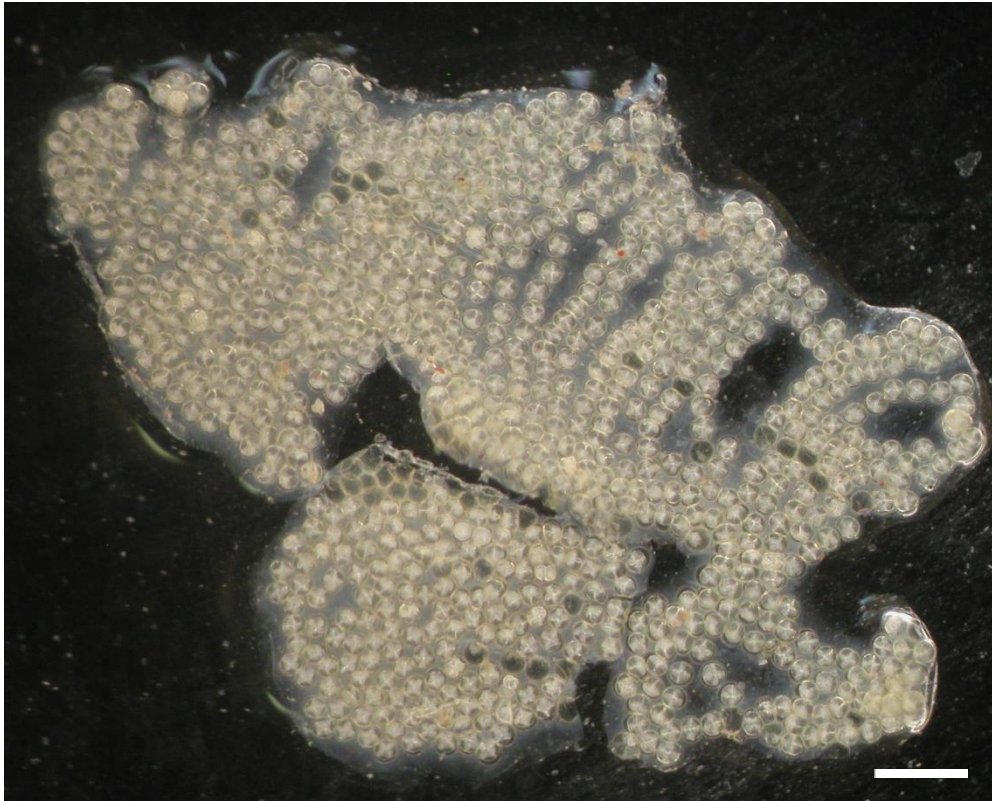


Fig. 4-3 An egg plate of *Stylochoplana pusilla*, scale bar 0.5 mm

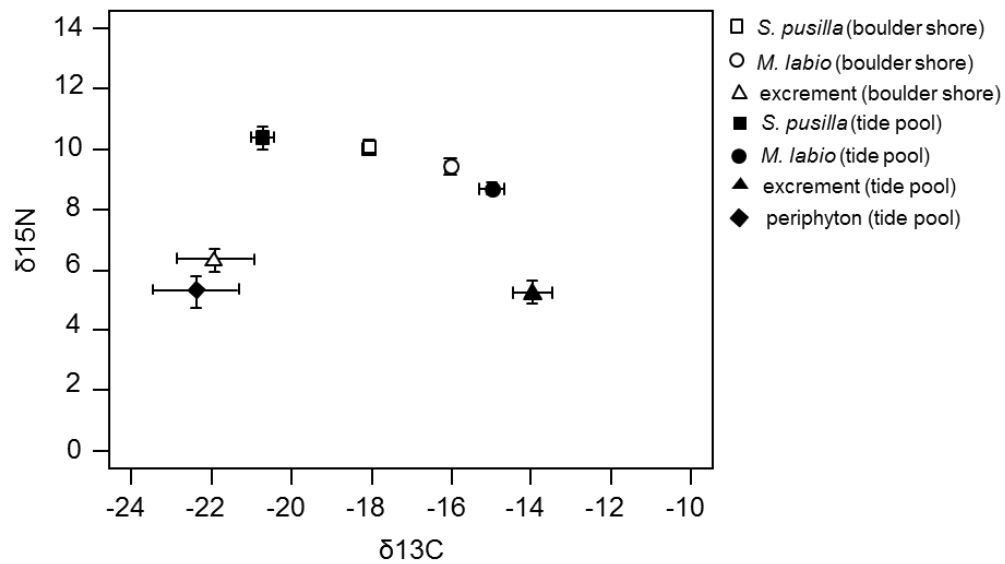


Fig. 4-4 Result of stable isotope analysis ($\pm\text{SD}$) for *Stylochoplana pusilla* body tissue, *Monodonta labio* body tissue, excrement of *M. labio*, and periphytic material collected at the boulder or tide pool sites

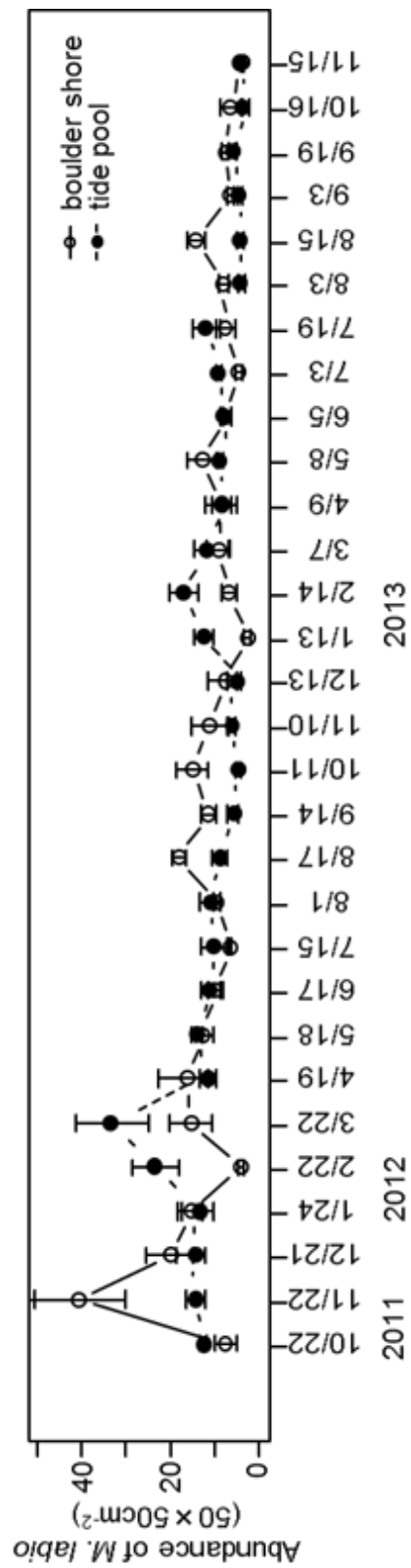


Fig. 4-5 Seasonal variations in the abundance of *Monodonta labio* with a shell diameter >12 mm

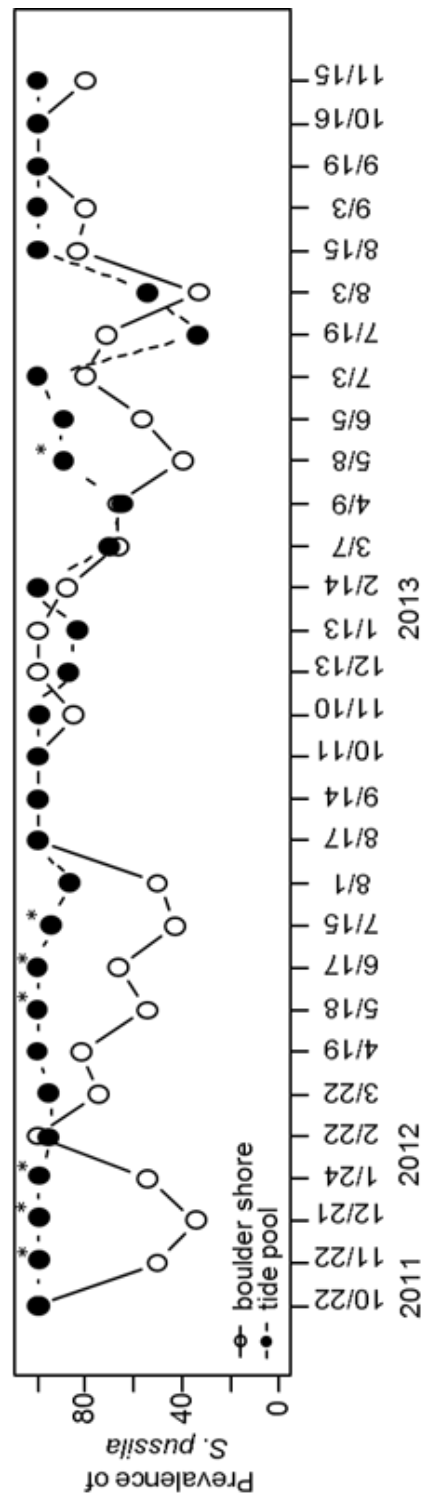


Fig. 4-6 Seasonal variations in the prevalence of *Stylochoplana pusilla* at each study site. Significant difference between the two sites at each sampling date via a Fisher's exact probability test ($P=0.05$) is denoted by an asterisk

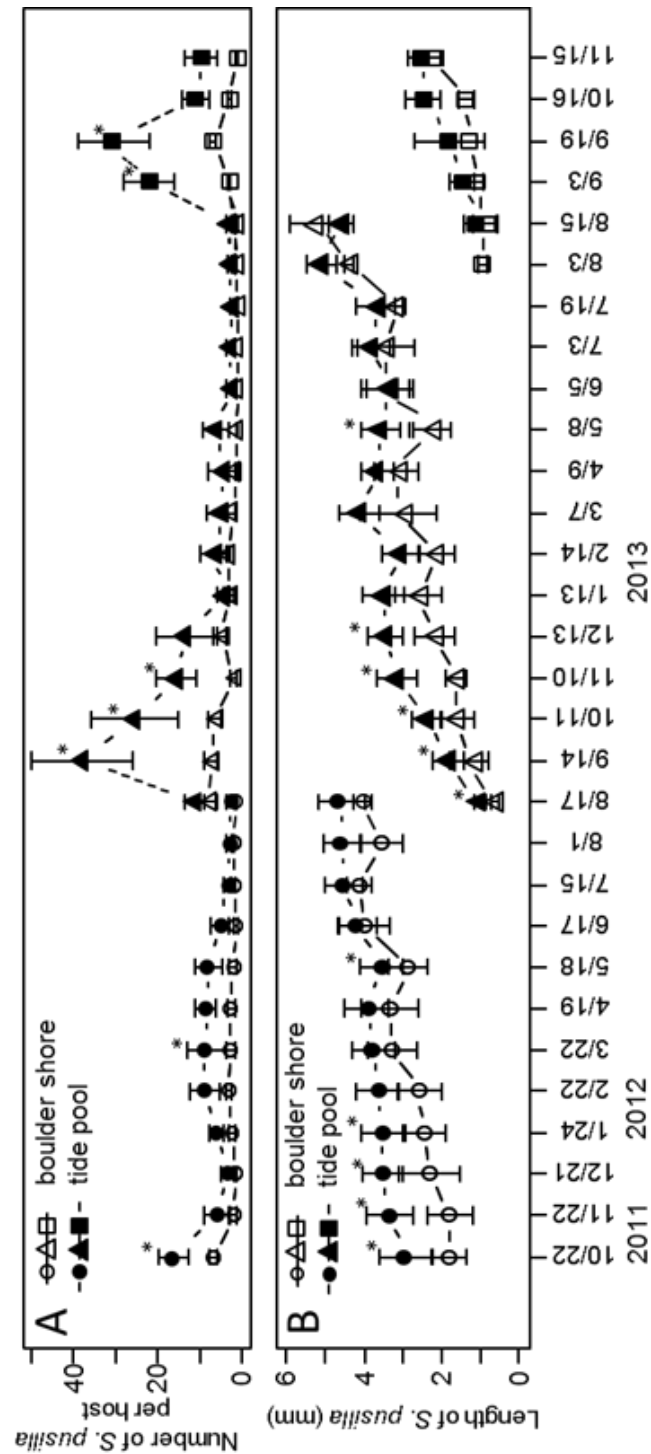


Fig. 4-7 Seasonal variations in the abundance (\pm SD) (A) and length (\pm SD) (B) of each *Stylochoplana pusilla* cohort at each study site. Significant differences between the two sites at each sampling date by a Tukey test ($P = 0.05$) are denoted by asterisks

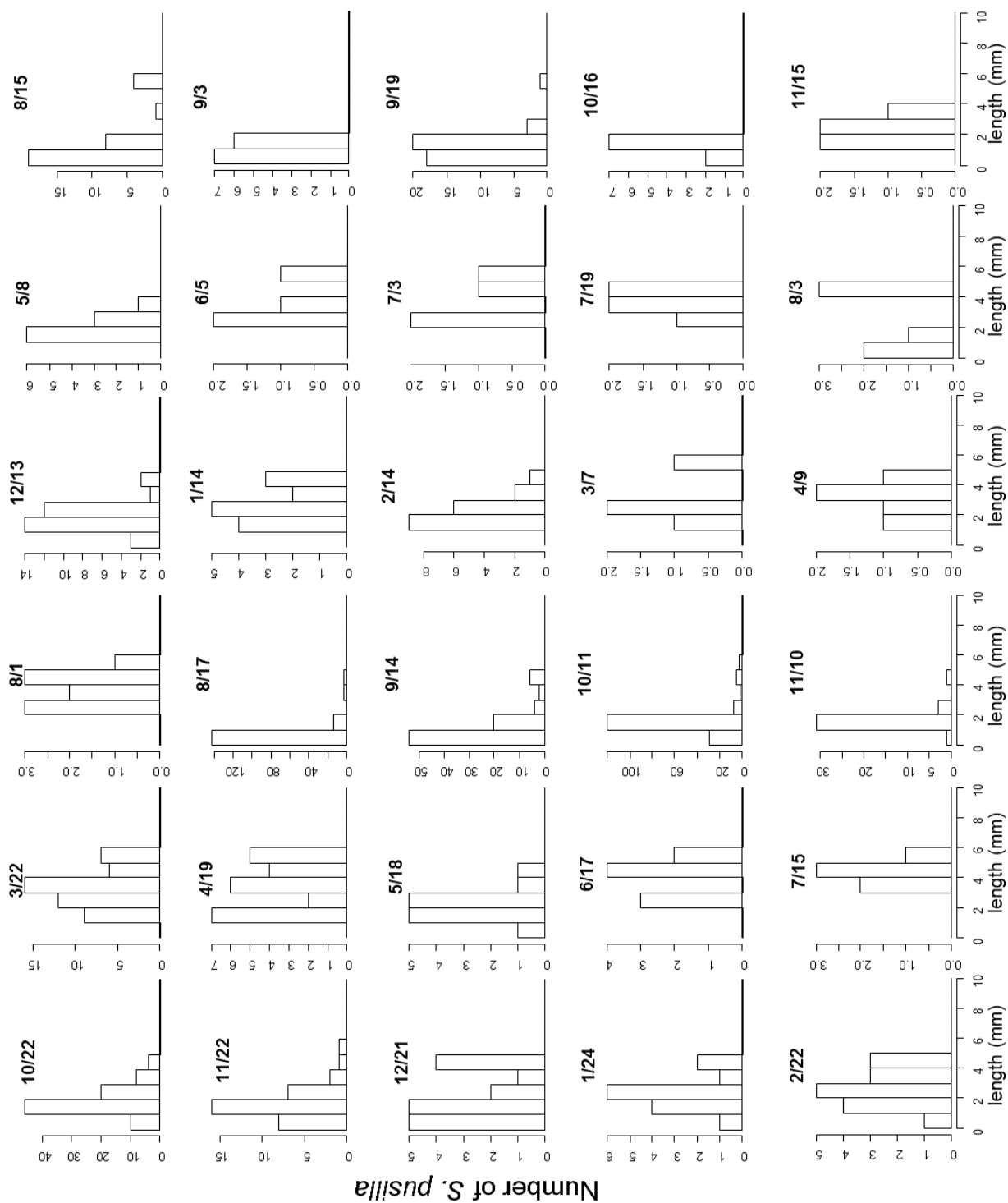


Fig. 4-8 Seasonal changes in the length of *Stylochoplana pusilla* at the boulder site

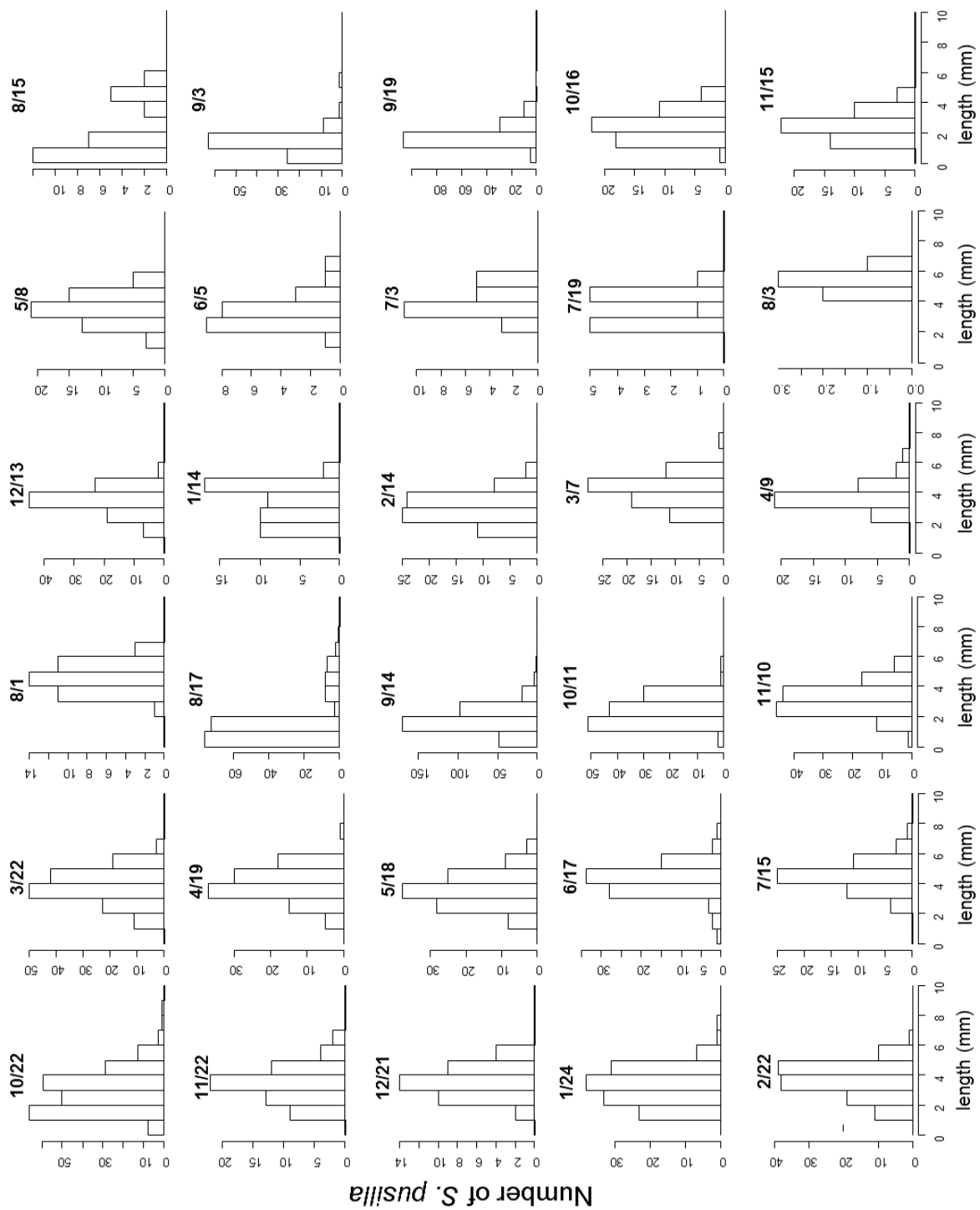


Fig. 4-9 Seasonal changes in the length of *Stylochoplana pusilla* at the tide pool site

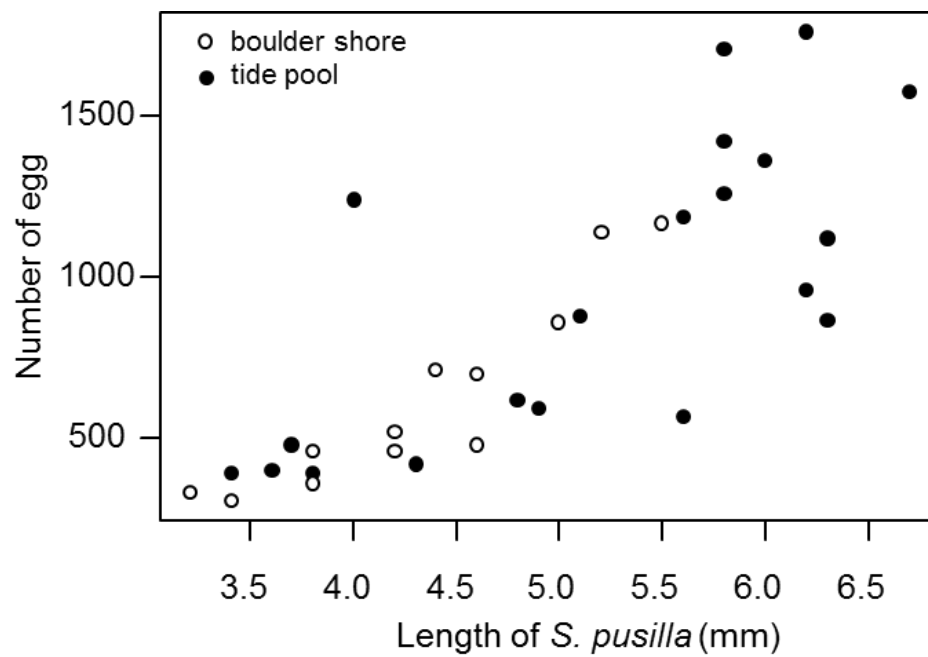


Fig. 4-10 Relationship between the number of eggs and body length of spawned *Stylochoplana pusilla*

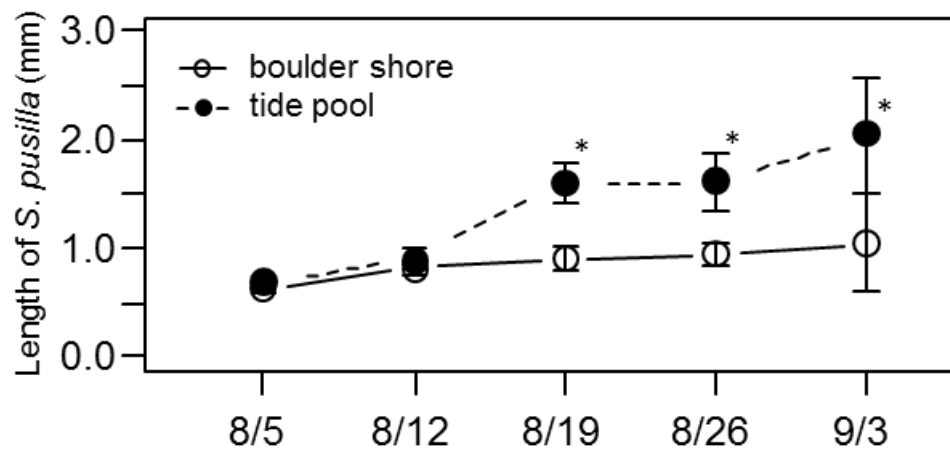


Fig. 4-11 Variations in the length of *Stylochoplana pusilla* after settlement at each study site. Significant differences between the two sites at each sampling date by a Tukey test ($P < 0.05$) are denoted by asterisks

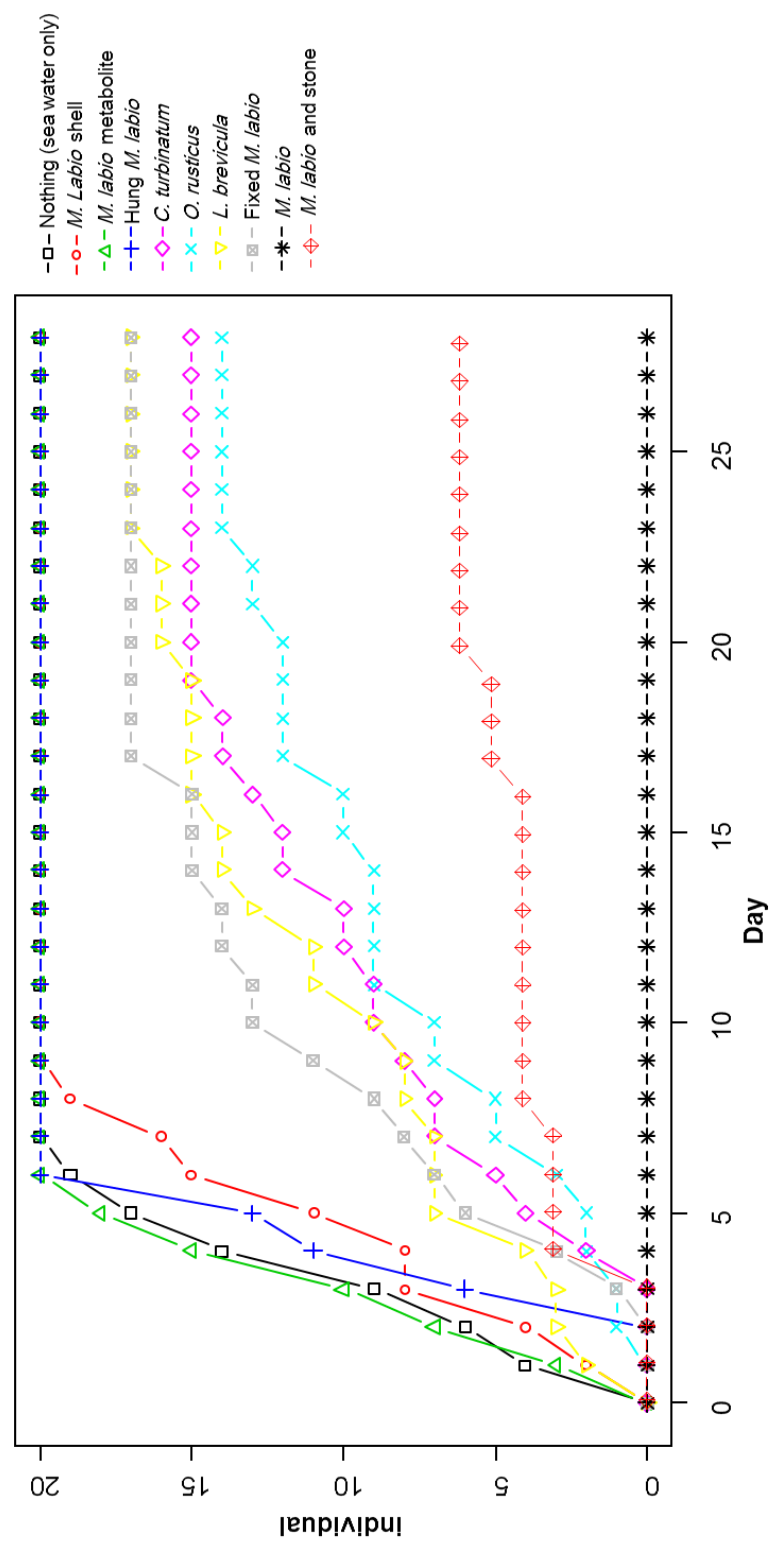


Fig. 5-1 Daily changes in the individual number of spawned *Stylochoplana pusilla* under different experimental conditions

Table 2-1 Environmental conditions at study sites showing number of boulder layers, major-axis length of boulders, bottom substrates and water conditions

Site	Layers of boulder	Length of boulder (\pm SD) (cm)	Bottom feature	Water condition
B1	1	20.4 \pm 3.9	sand	well-drained
B2	2 or 3	19.1 \pm 2.5	sand	well-drained
B3	1	15.7 \pm 3.3	sand	well-drained
R1	-	-	bedrock	well-drained
R2	-	-	bedrock	well-drained
BR1	1	18.4 \pm 4.1	bedrock	well-drained
BR2	1	15.7 \pm 3.3	bedrock	wet
TP1	-	-	bedrock	remaining
TP2	-	-	bedrock	remaining
TP3	-	-	bedrock	remaining

Table 2-2 Densities of potential host snails (individuals 0.25 m⁻²) at 10 eulittoral study sites in Mutsu Bay, Japan in May–June 2010 (mean±SD)

Site	<i>M. labio</i>	<i>C. turbinatum</i>	<i>O. rusticus</i>	<i>M. neritoides</i>	<i>T. coreensis</i>	<i>L. brevicula</i>
B1	10.7±5.5	4.7±5.5	-	-	-	-
B2	14.3±12.7	0.3±0.6	0.7±1.2	9.7±1.4	-	26.3±6.8
B3	10.3±4.0	0.3±0.6	-	-	1.0±1.0	1.0±1.7
R1	14.3±7.6	-	-	-	-	6.3±11.0
R2	15.7±3.2	-	-	-	1.7±2.1	-
BR1	16.3±8.3	0.3±0.6	1.7±2.1	-	1.3±1.2	-
BR2	8.0±3.6	10.7±9.2	0.3±0.6	-	0.3±0.6	-
TP1	6.0±1.0	-	1.0±1.0	-	-	5.7±4.7
TP2	6.3±2.1	-	0.3±0.6	-	0.3±0.6	31.0±29.7
TP3	11.0±6.6	0.3±0.6	-	-	0.7±1.1	12.3±18.0

Table 2-3 Shell diameter (mm) of potential host snails at each study site (mean±SD).
Number of individuals measured are denoted by figures in parentheses

Site	<i>M. labio</i>	<i>C. turbinatum</i>	<i>O. rusticus</i>	<i>M. neritoides</i>	<i>T. coreensis</i>	<i>L. brevicula</i>
B1	16.8±1.6 (32)	20.0±5.5 (14)	-	-	-	-
B2	10.8±5.0 (43)	15.6 (1)	16.9±0.2 (2)	10.1±2.1 (29)	-	11.4±3.4 (79)
B3	17.1±3.1 (31)	23.5 (1)	-	-	22.8±3.8 (3)	4.5±0.4 (3)
R1	14.5±1.6 (43)	-	-	-	-	11.6±1.4 (19)
R2	15.3±2.2 (47)	-	-	-	19.6±1.9 (5)	-
BR1	16.2±1.3 (49)	28.1 (1)	22.0±4.2 (5)	-	18.7±1.5 (4)	-
BR2	16.7±2.0 (24)	21.1±5.6 (32)	25.4 (1)	-	22.5 (1)	-
TP1	18.4±2.2 (18)	-	14.3±5.6 (3)	-	-	10.8±1.7 (16)
TP2	17.9±2.4 (19)	-	22.7 (1)	-	21.4 (1)	7.4±1.9 (93)
TP3	15.8±1.4 (33)	24.9 (1)	-	-	23.3±0.2 (2)	5.5±2.3 (37)

Table 2- 4 Proportion (%) of potential host snail individuals distributed in vertically different areas at (a) the rock surfaces near a tide pool and (b) the wall of Jetty 1. The vertical part was categorized as above, at or below the water surface. Percentage of individuals that closed their operculum at low tide is denoted by “Shut”

Host snail	Above		At		Below		Shut	
<i>M. labio</i> (a)	0	(0/41)	12.2	(5/41)	87.8	(36/41)	0	(0/41)
<i>M. labio</i> (b)	61.5	(8/13)	15.4	(2/13)	23.1	(3/13)	0	(0/13)
<i>L. brevicula</i> (a)	85.9	(91/106)	10.4	(11/106)	3.8	(4/106)	86.8	(92/106)
<i>L. brevicula</i> (b)	100	(30/30)	0	(0/30)	0	(0/30)	100	(30/30)
<i>C. turbinatum</i> (b)	0	(0/13)	0	(0/13)	100	(13/13)	0	(0/13)
<i>O. rusticus</i> (b)	0	(0/33)	6.1	(2/33)	93.9	(31/33)	0	(0/33)

Table 2-5 Prevalence (%) of *Stylochoplana pusilla* in potential host snails collected and percentage proportion of *S. pusilla* individuals in each potential host snail species relative to the total individuals collected

Host snail	Prevalence		Proportion of individual number	
<i>M. labio</i>	82.6	(280/339)	92.6	(1773/1915)
<i>C. turbinatum</i>	42.0	(21/50)	6.4	(122/1915)
<i>O. rusticus</i>	15.4	(2/13)	1.0	(20/1915)
<i>M. neritoides</i>	0	(0/29)	0	(0/1915)
<i>T. coreensis</i>	0	(0/16)	0	(0/1915)
<i>L. brevicula</i>	0	(0/248)	0	(0/1915)

Table 4-1 Comparison of ecological traits and population parameters of *Stylochoplana pusilla* between the boulder and tide pool sites

Population parameters	2011		2012	
	Boulder	Tide pool	Boulder	Tide pool
Mean length of mature <i>S. pusilla</i> (mm)	4.12	4.50	3.58	3.56
Mean number of mature <i>S. pusilla</i> per host	2.00	3.56	1.00	2.40
Estimated number of total eggs per host	1159.31	2522.67	396.39	1008.36
Mean number of newly settled juveniles per host	8.20	37.89	7.00	30.60
Settlement rate from egg to juveniles (%) ^a	0.71	1.52	1.75	3.03
Survival rate (2011–2012) (%) ^b			12.19	6.33

^a, number of newly settled juvenile/total number of eggs, ^b, number of mature *S. pusilla* in 2012/number of newly settled juveniles in 2011

Table 5-1 Experimental condition and existing cues

Condition	Chemical cue			Accidental contact	Voluntary contact	Contact evasion
	Shell	Soft body	Mucus			
Nothing (sea water only)						
<i>M. labio</i> shell	○					
<i>M. labio</i> metabolite	○	○	○			
Hung <i>M. labio</i>	○	○	○			
<i>C. turbinatum</i>	○	○	○	○	○	
<i>O. rusticus</i>	○	○	○	○	○	
<i>L. brevicula</i>	○	○	○	○	○	
Fixed <i>M. labio</i>	○	○	○		○	
<i>M. labio</i>	○	○	○	○	○	
<i>M. labio</i> and stone	○	○	○	○	○	○

