

2023 年度

博士学位論文

日本産ババヤステ科ヤステと *Spirurina* 亜目線虫の
寄生進化学的研究

中部大学大学院

応用生物学研究科 応用生物学専攻

長江 星八

目次

第1章 緒言

- 1-1. ヤスデ綱 (Diplopoda)
- 1-2. 線形動物門 (Nematoda)
- 1-3. Spirurina 亜目動物寄生性線虫
- 1-4. ヤスデを宿主とする Spirurina 亜目線虫

第2章 中部大学キャンパスに生息するババヤスデ2種に寄生する *Rhigonema naylae* および *Travassosinema claudiae* についての調査

- 2-1. 背景
- 2-2. 材料と方法
- 2-3. 結果
- 2-4. 考察
- 2-5. 表 (Table 2-1)
- 2-6. 図 (Figure 2-1 ~ Figure 2-5)

第3章 中部地域と九州地域に生息するババヤスデ科ヤスデに寄生する Rhigonematoidea 上科および Thelastomatoidea 上科線虫についての調査

- 3-1. 背景
- 3-2. 材料と方法
- 3-3. 結果
- 3-4. 考察
- 3-5. 表 (Table 3-1 ~ Table 3-4)
- 3-6. 図 (Figure 3-1 ~ Figure 3-12)

第 4 章 南西諸島に生息するババヤスデ科ヤスデに寄生する Rhigonematoidea 上科 および Thelastomatoidea 上科線虫についての調査

- 4-1. 背景
- 4-2. 材料と方法
- 4-3. 結果
- 4-4. 考察
- 4-5. 表 (Table 4-1 ~ Table 4-4)
- 4-6. 図 (Figure 4-1 ~ Figure 4-13)

第 5 章 結言—Spirurina 亜目線虫の分子系統解析から寄生性進化について考察

- 5-1. 背景
- 5-2. 材料と方法
- 5-3. 結果
- 5-4. 考察
- 5-5. 表 (Table 5-1)
- 5-6. 図 (Figure 5-1 ~ Figure 5-4)

引用文献

謝辞

第1章 緒言

1-1. ヤスデ綱 Diplopoda

ヤスデ(ヤスデ綱 Diplopoda)は、ムカデ(ムカデ綱)などと共に多足亜門に属する節足動物であり、陸生節足動物としては昆虫綱やクモ形綱に次いで3番目に多様性の高い綱である(Golovatch & Kime, 2009)。16目145科3,005属に約12,000種が記載されており、未記載種を含めると80,000種を超えると推定される(Sierwald & Bond, 2007)。触顎亜綱と唇顎亜綱に分類され、触顎亜綱は剛毛で覆われた軟らかい体を持つフサヤスデ目のみから構成される。唇顎亜綱は雄成虫の最後の2-3対の脚が交尾器に変形していることが特徴の後雄類と、雄成虫の第6から第8胴節(頭部を除く体節)の何対かの脚が交尾器に変形していることが特徴の前雄類に分類され、後雄類は平らな体を持つナメクジヤスデ目、ダンゴムシに似た姿のタマヤスデ目およびネットイタマヤスデ目から、前雄類はその他のヤスデから構成される(田辺, 2001)。前雄類は扁平な体を持つヤスデから構成される単顎類とその他のヤスデから構成される真顎類に分類され、真顎類は尾部末端に糸を出す腺を持つツムギヤスデ上目、円筒形の体を持つヒメヤスデ上目、胴節の側部が翼状に張り出すことが特徴の最も種数が多いオビヤスデ目のみから成るオビヤスデ上目で構成される。ヤスデは形態学的・生態学的な多様性が低く、その大部分は、ヒメヤスデ上目のような円柱形をしており、植物遺骸(落葉、落枝、倒木など植物に由来する遺骸)を分解する腐食性の土壌動物(土壌に依存した生活を送る動物)である(Golovatch & Kime, 2009)。基本的な生息環境は温帯から熱帯にかけての森林の地表であり、リター(地面に落ちた植物遺骸)やリターと土壌の間、朽木に生息するが、一部は、海岸、淡水域、砂漠、ツンドラ地帯、高山、洞窟、土壌奥深く、着生植物(土壌に根を下ろすことなく、岩石や木の幹に根を張って生活する植物)、樹皮、樹冠、アリの巣、シロアリの巣および鳥の巣といった特殊な環境に

生息する(Golovatch & Kime, 2009)。また、移動性が低く、一定の距離を離れると地理的変異が容易に見られる動物であり、広い範囲に自然分布する種はほとんどいない(田辺, 2001; Golovatch & Kime, 2009)。クダヤスデ目とツムギヤスデ目以外の後雄類とタマヤスデ目は防御物質(生物が捕食・攻撃・刺激を受けたときに放出する化学物質)を分泌でき、p-ベンゾキノン、p-クレゾール、フェノール、キナゾリン、アルカロイド、テルペノイドおよびシアン配糖体など昆虫や脊椎動物の捕食者に有毒な化学物質が複数の種別にわたって確認されている(Sierwald & Bond, 2007)。

ヤスデの一種 *Pneumodesmus newmani* (Wilson & Anderson, 2004)を始めとする Archipolypoda 上目(絶滅したグループ)に属する最古のヤスデが、シルル紀後期(約 4 億 2300 万年前)の地層から数種類見つかった。気体から酸素を取り込む呼吸器官が備わっていることから、これが動物として最も古い証拠であり、したがってヤスデは動物の中で最も初期に陸上へ進出したと考えられている(Wilson & Anderson, 2004; Selden & Read, 2008)。一方、最古のムカデはデボン紀初期(約 4 億 1800 万年前)の地層から見つかったゲジの一種 *Crussolum* (Shear et al., 1998)が知られている(Edgecombe, 2011)。分子系統解析によると、ムカデ綱の多様化はシルル紀前期に、ヤスデ綱の多様化はオルドビス紀中期からシルル紀初期に始まっており、多足類の 4 つの綱はカンブリア紀に分岐し、その時点で陸生化していたことを示唆している(Fernández et al., 2018)。ヤスデを始めとする現生の多足類グループの化石記録は、シルル紀中期以降の陸生種のみで水生種は存在せず、カンブリア紀中期から三疊紀中期までに 18 種が知られている絶滅節足動物 Euthycarcinoid (Euthycarcinoidea 亜綱)が現生多足類のステムグループ(現生する姉妹群との最初の共通祖先までの間に派生した絶滅グループ)(姉妹群はお互いに最も近縁な 2 つの単系統群)となる水生多足類だと示唆されている(Edgecombe et al., 2020)。Euthycarcinoid はカブトガニのような水陸両用の性質を示すカンブリア紀の生痕化石が知られ、海洋環境から淡水環境

へと移行したことが化石記録より示されているため、カンブリア紀中期までにこのグループと分岐した現生多足類の祖先は海洋から陸へ上がり陸生化したと考えられる (Edgecombe et al., 2020)。また、他の陸生節足動物の六脚類とクモ形綱、陸上植物も分子系統解析によりほぼ同時期の陸上進出が示唆されている (Fernández et al., 2018; Morris et al., 2018)。Archipolypoda 上目は前雄類であり (Sierwald & Bond, 2007)、このような最古のヤスデも明らかに腐食性動物で、進化の初期には現生のほとんどのヤスデと同様の林床に生息する腐食性動物であったと考えられている (Golovatch & Kime, 2009)。ヤスデの生息する土壌環境の形成は、陸上植物の進化と関連している。陸上植物は陸地での岩石風化を促進し、シルル紀後期やデボン紀初期には細菌や真菌の共生生物と共に岩石を風化して土壌の発達に寄与したとされ (Buatois et al., 2022; Mitchell et al., 2019)、デボン紀初期(約 4 億 900 万年から 4 億 1100 万年前)にはヤスデのほか、ザトウムシ、ダニ、ワレイタムシ(絶滅したクモ形綱)、トビムシ、ゲジなどの節足動物に加えて線形動物の化石記録もあり、主要な土壌動物が出現していた (Dunlop & Garwood, 2018)。デボン紀から石炭紀にかけて、陸上植物はより深い根系を発達させて干ばつ耐性を持ち、湿地土壌、森林土壌、乾燥地土壌を形成して生息地を拡大させた (Buatois, et al., 2022)。石炭紀以降、ヤスデは急速に多様化し、マルヤスデ目のような円筒形で巣穴をほるヤスデ、オビヤスデ目のような背側が平坦でリターを分解するヤスデ、タマヤスデ目のような丸まるヤスデが古生代の時点で存在し、これら全てが土壌動物であったと考えられている (Golovatch & Kime, 2009)。例えば、石炭紀前期(約3億5千万年前)を生きたヒメヤスデ上目 Xyloiulidea 上科(目の所属不明の絶滅したグループ)の *Blanziulus parriati* (Langiaux & Sotty, 1976)と、後雄類 Aministrilyspedida 目(絶滅したグループ)の *Aministrilyspes fatimae* (Racheboeuf et al., 2004)は、現生のヤスデと同様に森林や沼地、リターなどの植物が繁茂する湿った陸上環境に生息する腐食性動物であり、植物遺骸の分解者であったと考えられている

(Lheritier et al., 2023)。これらのような古生代のヤスデは全て現存する 16 目に所属せず (Means et al., 2021)、現生のヤスデ目の化石記録は単顎類のギボウシヤスデ目と Siphonocryptida 目、ヒメヤスデ上目のヒメヤスデ目を除く 13 目が白亜紀(約 9900 万年前)のビルマ琥珀からの記録に代表されるように、中生代以降に限られている (Wesener & Moritz, 2018)。しかし、ヒメヤスデ上目 Xyloiulidea 上科の最古の記録(デボン紀前期, 約 4 億 1000 万年前)と分子系統解析を組み合わせた解析により、上位グループの大部分がデボン紀前期までに発生したことが示唆されている (Wilson, 2006)。

一部の種はヒトの活動にともなって分布を広げており、温帯から熱帯を中心に世界中広く分布するヤケヤスデ *Oxidus gracilis* (Koch, 1847)を始め、日本国内ではヤンバルトサカヤスデ *Chamberlinius hualienensis* (Wang, 1956)、ミナミヤスデ *Trigoniulus corallinus* (Gervais, 1847)が侵入している(田辺, 2001)。キシヤスデ *Parafontaria laminata armigera* (Verhoeff, 1936)やヤンバルトサカヤスデ、ヤケヤスデは時折通常の数倍以上に大発生することで知られ、列車の運行を妨害したり、家屋内に侵入したりすることで問題になる(田辺, 2001; Nijima & Shinohara, 1988)。また、ヤケヤスデは作物や花を食害することで知られ、ヨーロッパでは害虫として扱われる (Stoev et al., 2010)。

ババヤスデ科 Xystodesmidae Cook, 1895 は前雄類のオビヤスデ目に分類される(田辺, 2001)。北米や東アジア、地中海などに 486 種が知られており、そのうち 188 種が北米東部のアパラチア山脈に生息する (Means et al., 2021)。日本国内にはババヤスデ属 *Parafontaria* Verhoeff, 1936、アマビコヤスデ属 *Riukiaria* Attems, 1938、ヤエタケヤスデ属 *Yaetakaria* Hoffman, 1949、タカクワヤスデ属 *Xystodesmus* Cook, 1895 およびヤマンバヤスデ属 *Levizonus* Attems, 1898 の 5 属から約 50 種に加え、ひとつの種複合体が知られている(篠原ら, 1999)。カリフォルニアに生息する *Motyxia* spp. は生物

発光することが知られ (Marek et al., 2011)、アパラチア山脈に生息する *Apheloriine* spp. 同士はミューラー型擬態(共通の捕食者に対して防御機構を持つ生物同士が色やにおいなどの警告シグナルを模倣すること。)の関係にあることが知られ (Marek & Bond, 2009)、さらにキシヤヤスデは前述の通り大発生することが報告されていることなど、興味深い生物学的特徴を示すものも多い (Means et al., 2021)。キシヤヤスデとミドリババヤスデ種複合体 *Parafontaria tonominea* Species complex は、ヤスデとしては珍しく成虫になってからも土壌を食べる食性が確認されている (金子, 2004)。幼虫の時は土壌のみを食べるが、成虫になると土壌とリターを混色するようになり、糞中に炭素を閉じ込めて土壌に蓄積する (岩島ら, 2011)。そのため、ミズ同様に生態系の物質循環に大きな影響を及ぼす重要な分解者である (岩島ら, 2011)。

1-2. 線形動物門 (Nematoda)

線虫とは線形動物門に属する動物の総称である (石橋, 2003)。2 万 4,000 種以上が記載され、未記載種を含めれば 1 億種を超えるといわれるほど多様性が高く、地球上の様々な環境に 1 m²あたり 100 万頭程度の密度で生息するほどバイオマスが多いとされる (Ceron-Noriega et al., 2023; 石橋, 2003)。自由生活を行う線虫では細菌食性、植物食性、糸状菌食性、腐肉食性、捕食性など多様な食性が見られるほか、寄生性の種も数多く存在し、ほとんど全ての生物に寄生するといわれる (石橋, 2003)。その密度の高さから環境指標にも用いられ、海洋環境における富栄養化の程度を酸欠に強い線虫と、酸欠に弱いカイアシ類 (線虫に次いで密度の高い水生微小節足動物) との密度比で表すことも多い (石橋, 2003)。

自由生活性線虫の中でも *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900) という体長 1 mm ほどの線虫は、大腸菌を餌に温かな室温条件で容易に培養でき、温度条件により 2 から 5 日程度で世代交代し、雌雄同体と雄の 2 つの性による自家受精と他家受精を使

い分けるため遺伝学的解析が容易であり、約 1,000 個と少ない細胞数で多様な体組織を形成する透明な体により動物のモデル生物として非常に価値が高いといわれる(石橋, 2003)。植物寄生性線虫(Plant Parasitic Nematodes PPN)は世界全体で年間数千億円規模の損害をもたらす産業上極めて重要な作物の病害生物であり、その中でもマツノザイセンチュウ *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner, 1934) Nickle 1970 はグローバル化に伴い東アジアとヨーロッパで蔓延する松枯れ病というマツ科樹木を枯死させる感染症の病原体であり、パンデミックを引き起こしている(Usovsky et al., 2023; Matsuhashi et al., 2020)。一方、昆虫病原性線虫(Entomo Pathogenic Nematode, EPN)は昆虫病原性細菌と共生関係を結び、共に昆虫体内に侵入して昆虫を殺すことでその死体を餌資源として利用する生態を持つことから、生物農薬として使用されている(石橋, 2003)。動物寄生性線虫は多量に侵入する場合を除いて本来の宿主(寄生生物が寄生する相手)に大きな被害をもたらすことはなく、しかし本来とは異なる宿主に侵入したときに大きな被害をもたらす場合がある(石橋 2003)。いずれにしても寄生虫そのものによる被害より他の疾病の誘発・併発により被害が増大し、植物寄生性線虫の場合でもそれが当てはまる(石橋 2003)。特定の宿主に特定の寄生虫が認められる例も多く、このような性質を宿主特異性と呼ぶ(石橋 2003)。こうした宿主特異性に加えて宿主と寄生虫の系統に相関がある例もあることから、両者の遺伝的変化を伴う進化、すなわち「共進化」していると考えられている(石橋 2003)。

1-3. Spirurina 亜目動物寄生性線虫

線形動物門は Dorylaimia 亜綱、Enoplia 亜綱、Chromadoria 亜綱の 3 亜綱に分類される(Blaxter & Koutsovoulos, 2015)。Chromadoria 亜綱は動物寄生性線虫のみから成る Spirurina 亜目、植物寄生性線虫を多く含む Tylenchina 亜目、土壌線虫を多く含む Rhabditina 亜目、特に多様性の高い 3 つのグループが所属し、これらが属する

Rhabditina 目は分子系統解析により海生の祖先から淡水生、半水生を経て陸生へと進化したことが示唆されている (Blaxter & Koutsovoulos, 2015)。

Dorylaimia 亜綱、Enoplia 亜綱、Tylenchina 亜目、Rhabditina 亜目でも一部グループで動物寄生性を獲得しているが、Spirurina 亜目はグループ全体が動物寄生性であり、終宿主(寄生虫が最後に感染する宿主)の餌となる甲殻類や魚類を中間宿主(寄生虫が終宿主にたどり着くために必要な仲介役の宿主)や待機宿主(寄生虫が終宿主へたどり着くために不要だが、有用となる仲介役の宿主)とする生活環や、中間宿主を必要とせず直接終宿主に感染する生活環があり、無脊椎動物から脊椎動物まで幅広い宿主範囲を持つ (Blaxter & Koutsovoulos, 2015)。中間宿主のオキアミを介して終宿主のクジラに感染するアニサキス属線虫では、待機宿主のサバやイカを介して生活環と無関係なヒトに感染し、胃壁などに侵入して腹痛を起こすことが知られ、一方でカイアシ類を介して飲み水から感染するギニアワーム *Dracunculus medinensis* (Linnaeus, 1758)や、蚊などの吸血昆虫を介して感染するフィラリア類では生活環の中でヒトに病気を引き起こすように、ヒトの病原体として重要な種も含まれている(石橋 2003)。そのため、「動物寄生性がどのように進化するのか」を研究するうえで格好の材料であるといえる。

Spirurina 亜目のなかでも Oxyuridomorpha 下目は、単純な生活環を共有し、トカゲ、カメ、サル、ネズミ、ウサギなどの脊椎動物に寄生する Oxyuroidea 上科と、ヤスデ、ゴキブリ、ケラ、クロツヤムシ、コガネムシ、ガムシなどの節足動物に寄生する Thelastomatoidea 上科から約 850 種が知られ、広範囲の節足動物と脊椎動物に広がる唯一のグループである (Ozawa & Hasegawa, 2018; Adamson, 1994)。Oxyuroidea 上科の蟯虫の仲間は、宿主動物の肛門付近に産み付けられた線虫卵が毛づくろいなどの行動により経口的に摂取されることで感染する単純な生活環を持ち、別種宿主に感染する機会が少ないため宿主・寄生性線虫間で共進化する傾向が強い(石橋, 2003;

Stahl, 1963; Cook, 1994)。そのため、サル目全体と共進化しており、ヒトと共進化した唯一の寄生虫だとも考えられている(石橋 2003; Hugot et al., 1999)。また、ヒト蟯虫 *Enterobius vermicularis* (Linnaeus, 1758) がチンパンジー *Pan troglodytes* に感染して致命的な病原性を発揮したと思われる例もあり、高度な宿主特異性があることが示唆されている(Murata et al., 2002)。一方、Thelastomatoidea 上科のゴキブリ寄生性線虫では、宿主糞便と共に排泄された線虫卵が食糞行動により直接摂取されるというごく単純な生活環を持つ。*Leidynema appendiculatum* (Leidy, 1850) という種を用いた人工感染実験では、2 亜目 3 科 5 種のゴキブリ宿主に感染・成熟することから、宿主特異性が極めて低いことが示されている(Ozawa et al., 2014; Ozawa et al., 2016; Ozawa & Hasegawa, 2018)。Oxyuroidea 上科の最古の化石記録として、Heteroxynematidae 科の *Paleoxyuris cockburni* (Hugot et al., 2014) の卵の化石記録が三畳紀中期(約 2 億 4000 万年前)のキノドン類(哺乳類の上位分類)のものとされる糞の化石から知られており、古くから動物寄生性を有して存在することが明らかである(Hugot et al., 2014)。古くから存在するにも関わらず、その生息環境や生活環に多様化が見られないという点が、多くの中間宿主を有する Ascaridomorpha 下目や Spiruromorpha 下目と比べて特徴的である(Adamson, 1994)。ゴキブリの場合、寄生性線虫が腸内細菌叢に大きな影響を与えることが確認されており、無脊椎動物を宿主とする Oxyuridomorpha 下目線虫は、線虫捕食性と思われる *Coronostoma* 属を除き全て機能的に腸内細菌食性だと考えられている(Vicente et al., 2016; Phillips et al., 2016)。初期の寄生性線虫は近縁の自由生活性線虫と同様に細菌を餌にし、腸内細菌叢に依存するものだと考えられるため、最古の陸上動物にして腐食動物であるヤスデによって腐植質と共に摂取された自由生活性の細菌食性土壌線虫、あるいはその卵から最初の Oxyuridomorpha 下目線虫が誕生した可能性が高いと思われる(Adamson, 1994)。そこから低い宿主特異性により様々な無脊椎動物宿主を利用して多様化し、脊椎動物を宿主にしてから高度

な宿主特異性を発達させたと考えられるため、宿主特異性の進化モデルとしてふさわしいといえる。

1-4. ヤスデに寄生する *Spirurina* 亜目線虫

ヤスデはグレガリナ(原生動物)、繊毛虫、真菌、寄生バエ、ハリガネムシ、鉤頭虫、Rhabditoidea 上科線虫(Rhabditina 亜目)などの様々な寄生生物が腸内や体腔内に寄生することが知られ、*Spirurina* 亜目では *Oxyuridomorpha* 下目と *Rhigonematomorpha* 下目の進化的に起源の異なる2つのグループが腸内に寄生する(Morffe & Hasegawa, 2017ab; Phillips et al., 2020)。1-3. で述べた通り、*Oxyuridomorpha* 下目は自由生活性の細菌食性土壌線虫祖先がヤスデに摂取されることで誕生した可能性が考えられている(Adamson, 1994)。一方、*Rhigonematomorpha* 下目は *Rhigonematoidea* 上科と *Ransomnematoida* 上科に分類され、200 種以上の種から構成される大規模で複雑なグループである(Fabiyi et al., 2023)。ヤスデのみから分離されるため、*Oxyuridomorpha* 下目と同様に単一の宿主のみで生活環を完結させる偏性寄生性(適切な宿主無しに生活環を成立させることができない性質)線虫と考えられている(Hunt, 1996b)。*Rhigonematoidea* 上科は中腸と後腸の境界にある幽門(消化領域と吸収領域を隔てる門の役割を持つ部分)や腸壁にあるひだの隙間に寄生し、顎のような構造体で腸壁に付着する様子が観察されている(Hunt, 1996b)。一方で *Ransomnematoida* 上科は腸壁に付着せず後腸内腔に寄生しており、グループごとに生態が異なる(Hunt, 1996b)。どちらのグループも生活環は不明だが、雌成虫が産んだ卵が水道水中で孵化することが確認されており、これが感染態(宿主への感染を行う状態)だと考えられている(Hunt, 1996b)。ほとんどの種が細菌食性とされている *Oxyuridomorpha* 下目線虫と異なり、*Rhigonematomorpha* 下目線虫は腸内容物か他の線虫のどちらかを餌とするとされる(Blaxter & Koutsovoulos, 2015)。

ヤスデは節足動物の中でも特に古い時代から形態や生態を大きく変化させず、少なくとも約 4 億年以上前までには土壌線虫を含む様々な土壌動物と共に土壌動物相を形成して繁栄してきたと思われる (Dunlop & Garwood, 2018)。様々な節足動物を宿主とする Oxyuridomorpha 下目 Thelastomatoidea 上科と、ヤスデのみを宿主とする Rhigonematomorpha 下目、進化的に起源の異なる 2 つの Spirurina 亜目線虫がヤスデ宿主に感染しているという事実は非常に興味深く、「動物寄生性線虫 Spirurina 亜目の起源を探るうえでヤスデは重要な宿主である」といえる。しかし、これら 2 つの異なる分類群の寄生性線虫同士の関係や、宿主との関係に焦点を当てた研究報告は乏しい。そのため、それを明らかにすることを目的として研究を行った。

第 2 章 中部大学キャンパスに生息するミドリババヤスデとオビババヤスデに寄生する *Rhigonema naylae* および *Travassosinema claudiae* についての調査

2-1. 背景

中部大学に生息するババヤスデ科のオビババヤスデ *Parafontaria laminata* から、2 種の寄生性線虫 *Rhigonema naylae* と *Travassosinema claudiae* が分離・記載されている (Morffe & Hasegawa, 2017ab)。両線虫種共に Spirurina 亜目に属しているが、*R. naylae* は Rhigonematomorpha 下目 Rhigonematidae 科に属し、一方、*T. claudiae* は Oxyuridomorpha 下目 Thelastomatidae 科に属している (Morffe & Hasegawa, 2017ab) (Figure 2-2)。

Rhigonematomorpha 下目には Rhigonematoidea 上科、Ransomnematoidea 上科、Cosmocercoidea 上科の 3 つの上科が存在し、Rhigonematoidea 上科、Ransomnematoidea 上科はヤスデ寄生性線虫によって構成されているが、Cosmocercoidea 上科は両生類寄生性線虫によって構成される分類群である (Hunt, 1996b; Nagae et al., 2021)。この分類群は分子系統関係に関する研究が進みつつあるものの、生態や生物間作用といった研究は発表されていない。

また、Oxyuridomorpha 下目には Oxyuroidea 上科、Thelastomatoidea 上科、Coronostomatoidea 上科の 3 つの上科が存在し、Oxyuroidea 上科は脊椎動物、Thelastomatoidea 上科と Coronostomatoidea 上科は無脊椎動物の寄生性線虫によって構成される分類群である (Adamson, 1994; Phillips et al., 2016)。脊椎動物寄生性の Oxyuroidea 上科は、ヒト蟯虫 *Enterobius vermicularis* や *Trypanoxyuris* 属、*Lemuricola* 属などの霊長類寄生性線虫が知られ、宿主動物の肛門付近に産み付けた線虫卵が毛づくろいなどの行動で経口摂取されることで成り立つシンプルな生活環を持ち、宿

主霊長類との共進化が確認されている(石橋, 2003; Hugot et al., 1999)。無脊椎動物寄生性線虫から構成される Thelastomatoidea 上科は、ワモンゴキブリ *Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758)に寄生する *Thelastoma bulhoesi* (de Magalhães, 1900)やクロゴキブリ *Periplaneta fuliginosa* (Serville, 1838[1839])に寄生する *L. appendiculatum* といったゴキブリ寄生性線虫が宿主糞便と共に排出された卵が宿主体外で孵化することなく L2 ステージまで発生段階を進めて感染態となり、ゴキブリの食糞習性により直接摂取されることで腸内に感染・成熟するという生活環を持つことが実験的に証明されており、その個体群構成は雌成虫が数頭に対し、雄成虫が 1 頭に制御される傾向が確認されている(Ozawa et al., 2016; Ozawa & Hasegawa, 2018)。また、リュウキュウゴキブリ *Pycnoscelus indicus* (Fabricius, 1758)、オオゴキブリ *Panesthia angustipennis spadica* (Shiraki, 1906)などのゴキブリからそれぞれ複数種の異なる種のゴキブリ寄生性線虫が確認されている(Morffe et al., 2019; Morffe et al., 2023) (Figure 2-1)。

このように、オビババヤスデ *P. laminata* には進化的に起源の異なる 2 種類の寄生性線虫が同時に寄生しているといえるが、*R. naylae* と *T. claudiae* との間で競合はないか、宿主ヤスデとの間で何か関係性の違いはないか、わかっていない。さらに同属別種のミドリババヤスデ *P. tonominea* species complex が *P. laminata* と同所的に生息している。本章では、中部大学キャンパスに生息する 2 種のババヤスデ科ヤスデ、*P. laminata* と *P. tonominea* species complex を宿主とし、そこに寄生する線虫種の関係性について調べた。

2-2. 材料と方法

2-2-1. ババヤスデ科ヤスデの採集

中部大学春日井キャンパス(愛知県春日井市)の森林に生息するババヤスデ科ヤスデの採集を行った。採集は日中に行い、落葉の下に隠れているヤスデを熊手で掻き出して採集した。採集したヤスデは採取地の土と共に容器に入れて保管し、数日以内に解剖した。

2-2-2. ヤスデの解剖及び寄生性線虫の分離

採集したヤスデは、真っすぐに伸びたときの体長と 10 番目の胴節の横幅を計測し、胴節の数と性別を記録した。その後、ヤスデの尾節(最も後ろの体節)から 3 番目の胴節を 2 つのピンセットで引き抜き、肛門と結合した後腸を分離して脱イオン水の入ったシラキウス時計皿へ移した。後腸を体節から引き剥がし、実態顕微鏡下で縦に切り開いて寄生性線虫を分離した。分離した線虫は種ごとに雄成虫、雌成虫、幼虫の 3 つに成熟段階を分類してそれぞれの個体数を記録した。一部の線虫は 99.5%エタノールを入れた 1.5 ml マイクロチューブに移して DNA サンプルとして保存した。2018 年 4 月から 2020 年 7 月までに 195 頭の宿主ヤスデを解剖し、その解剖データから線虫種・成熟段階ごとの感染率(調査したヤスデのうち、感染していたヤスデの割合(%))と平均感染頭数(感染ヤスデに対する線虫頭数の平均)及びブートストラップ信頼区間(BCa)を Quantitative Parasitology 3.0 (Bush et al., 1997; Rózsa et al., 2000)を使用して計算した。ヤスデ宿主が死亡していると寄生性線虫も死亡し、腐敗することで同定が困難となるため、解剖時点で生存しているヤスデのみを使用した。

一部の線虫はノマルスキー微分干渉顕微鏡(Eclipse Ni-U, Nikon, Japan)で形態学的特徴を観察し、CMOS カメラ(WRAYCAM-NOA2000, Wraymer, Japan)で全体像を

撮影した。撮影後の線虫は 99.5%エタノールを入れた 1.5 ml マイクロチューブに移してDNAサンプルとして保存した。

2-2-3. ヤスデ寄生性線虫の分子レベルの種同定

ヤスデから分離した寄生性線虫の成虫を Proteinase K 約 1.7 mg/ml 溶液 12 µl に入れて 55°Cで 1 時間、95°Cで 5 分の熱処理を行った。これによりゲノム DNA を粗抽出し、DNA テンプレートとした。DNA テンプレートから 28S リボソーム RNA 遺伝子の D2/D3 領域を線虫用ユニバーサルプライマーD2A(5-ACA AGT ACC GTG AGG GAA AGT TG-3)および D3B (5-TCG GAA GGA ACC AGC TAC TA-3) (Nunn, 1992)と PCR 酵素 KOD FX Neo DNA Ploymerase (TOYOBO, Japan)を用いた PCR により増幅した。PCR産物は NucleoSpin[®] Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel, Germany)により精製した。精製した PCR 産物は PCR と同じプライマーを用いてユーロフィンジェノミクス株式会社(東京、日本)の DNA シーケンスサービスにより配列決定した。ヤスデ宿主ごとに、寄生する各線虫種から 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンスを配列決定したのち、BioEdit version7.0.5.3 (Hall, 1999)を用いて、全てのシーケンスを Clustal W Multiple alignment (Thompson et al., 1994)によりアライメントした。アライメントしたデータは MEGA11 version 11.0.30 (Tamura, et al., 2021)によりペアワイズ比較を行い、各シーケンス間における塩基対の相同率を求めた。

2-2-3. ババヤスデ科ヤスデに寄生する 2 つの寄生性線虫の個体群構成解析

R. naylae と *T. claudiae* が宿主に共感染(同時に感染すること)することによる、両者の個体群構成への影響を調べるために、ヤスデ宿主を(1)宿主全体、(2)*R. naylae* の

みが感染していた宿主、(3) *T. claudiae* のみが感染していた宿主、(4) *R. naylae* と *T. claudiae* が共感染していた宿主の 4 つの感染パターンに分類した。本実験では(3) *T. claudiae* のみが感染する宿主が見つからなかったため、(2)と(4)のパターンにおける *R. naylae* の感染頭数と感染率を比較した。また、季節変化による 2 つの寄生性線虫の個体群構成への影響を調べるために、(1)春に採集した宿主(3 月から 6 月)、(2)夏に採集した宿主(7 月から 10 月)の 2 つの季節パターンに分類し、2 つの季節パターン間での *R. naylae* と *T. claudiae* の感染頭数と感染率を比較した。感染率および感染頭数の比較は、Quantitative Parasitology 3.0 を用いた Fisher の正確検定(感染率)およびブートストラップ 2 標本 t-検定(平均感染頭数)による有意差検定を行った(Rózsa et al., 2000)。

それぞれの感染パターン間および季節パターン間で個体群構成に有意差が見られたため、宿主体長についても有意差検定を行った。Excel 2013 を用いてそれぞれの宿主体長が等分散か否かを f 検定により判定し、その結果に基づいて「等分散を仮定した 2 標本による t 検定」または「分散が等しくないと仮定した 2 標本による t 検定」を行った。

2-3. 結果

2-3-1. 中部大学に生息するババヤスデ科ヤスデから分離された 2 種の寄生性線虫 *R. naylae* と *T. claudiae*

中部大学春日井キャンパス(愛知県春日井市)の森林からは、過去に報告されたオビババヤスデに加えてミドリババヤスデ種複合体 *P. tonominea* species complex が採集された。解剖の結果、そのどちらからも 2 種の寄生性線虫 *R. naylae* と *T. claudiae* が分離された。28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域によるペアワイズ比較から、異なる

宿主から分離された *R. naylae* および *T. claudiae* はそれぞれ全く同じ遺伝子配列の同種であると分かった。*R. naylae* は雌雄ともに 5 mm を超えるほど体が大きく、大きな口腔、短い食道、丸い頭、短い尾を持ち、腸内には無機物結晶のような角ばった構造体が観察できた。オビババヤスデやミドリババヤスデは土壌食を行い(金子, 2004)、解剖の際も腸内容物に同様の無機物粒子が確認できたため、*R. naylae* はヤスデ宿主の腸内容物を摂食しており、捕食性ではないことが示唆された。*T. claudiae* は *R. naylae* と比べて体が小さく、雌成虫は傘に似た特徴的な頭部と長い尾を持っていた。雄成虫はさらに体が小さく、傘のような構造はなかった (Figure 2-2) (Morffe & Hasegawa, 2017ab)。2 種とも幼虫の性的二型は不明瞭だが、どの発育ステージにおいても 2 種を区別することは容易であった。

オビババヤスデに寄生する 2 種の寄生性線虫の総感染率(発育ステージや雌雄に関係なく一頭でも感染しているか否かの割合)は、*R. naylae* が 31.0%、*T. claudiae* が 27.4%であり、両者の共感染率(2 種の寄生性線虫が共に寄生している割合)は 10.6%であった(Table 2-1)。両線虫種の成虫の感染率に注目すると、*R. naylae* のほうが *T. claudiae* より高い傾向が見られたが、これら 2 種の寄生性線虫の様子に異常はなく、雌成虫は子宮内に卵があり成熟していた(Table 2-1)。ミドリババヤスデにおける *R. naylae* の感染率と感染頭数は、線虫の成熟段階すべてにおいて、オビババヤスデへの感染率より優位に高かった。また、*T. claudiae* 雌成虫の感染率と感染頭数、雄成虫の感染率も、オビババヤスデよりもミドリババヤスデのほうが優位に高かった(Figure 2-3)。総感染率は *R. naylae* が 96.3%で *T. claudiae* が 72.0%であり、共感染率は 72.0%だった(Table 2-1)。*R. naylae* は全ての成熟段階で高い感染率だが、*T. claudiae* は雌成虫が他の成熟段階より約 3 倍高い感染率だった(Table 2-1)。両線虫種の成虫は全て成熟しており、雌成虫の子宮内には多くの卵があった。特に *R. naylae* は、オビババヤスデに寄生するものよりババヤスデに寄生するものの体長が大きかった。

2つの寄生性線虫 *R. naylae* と *T. claudiae* は2種のヤスデを宿主として利用可能であるが、オビババヤスデよりもミドリババヤスデに安定して寄生していた。また、*T. claudiae* の感染率と感染頭数は、*R. naylae* よりも低い傾向が見られた。

2-3-2. 2つの寄生性線虫の共感染と季節の違いが個体群構成に与える影響

2つの寄生性線虫 *R. naylae* と *T. claudiae* が高い感染率で寄生するミドリババヤスデ宿主は、(1)2つの寄生性線虫が共感染している宿主(N=59)、(2)*R. naylae* のみが感染している宿主(N=20)、(3)線虫に感染していない宿主(N=3)の3つの感染パターンが確認できた。(1)の宿主における *R. naylae* 幼虫の感染率は、(2)の宿主と比べて優位に高いが、成虫の体長に有意差が無かった(Figure 2-4)。さらに、雄成虫と幼虫の感染頭数も優位に増加した(Figure 2-4)。これらの感染パターン間における宿主体長に有意差は無かった。このことから、*T. claudiae* との共感染は *R. naylae* への悪影響を与えず、宿主への強い影響もないことが示唆された。

これらの宿主ヤスデのうち33頭が春(3月から6月)に、49頭が夏(7月から10月)に採集された。*R. naylae* の感染率と成虫の感染頭数は、春と夏の間で有意差は無かったが、幼虫の感染頭数は春から夏にかけて優位に増加した(Figure 2-5)。*T. claudiae* の雌成虫と幼虫の感染率は春から夏にかけて大幅かつ優位に増加し、雌成虫の感染頭数も優位に増加した(Figure 2-5)。これらの季節パターン間において、宿主体長には有意差が無かった。このことから、*R. naylae* は季節を問わず安定して宿主ヤスデに感染する生活環を持っていることが示唆された。一方、*T. claudiae* は季節の影響を強く受ける生活環を持っていることが示唆された。

2-4. 考察

2-4-1. 中部大学に生息する 2 種のババヤスデ科ヤスデに寄生する 2 種の線虫 *R. naylae* と *T. claudiae* の関係

中部大学春日井キャンパスにはオビババヤスデとミドリババヤスデの 2 種のババヤスデ科ヤスデが生息し、その腸内には共通して 2 種の寄生性線虫 *R. naylae* と *T. claudiae* が寄生していた。これらの寄生性線虫は、オビババヤスデよりミドリババヤスデに安定して寄生していたため、ミドリババヤスデが本来の宿主であると考えた。オビババヤスデに寄生する 2 種の寄生性線虫の個体群構成は幼虫に偏っている。そのため、ミドリババヤスデからの水平感染が成立しているものの、その大部分が成熟できずに脱落すると思われる。このことから、*R. naylae* と *T. claudiae* はミドリババヤスデに対する宿主特異性がある可能性が考えられる。

ミドリババヤスデに寄生する *R. naylae* と *T. claudiae* の共感染による影響を調査したところ、*T. claudiae* との共感染は *R. naylae* への悪影響を与えず、また宿主への目立った影響もないことが示唆された。むしろ *T. claudiae* と共感染することで、*R. naylae* の一部成熟段階における感染頭数や感染率の増加が確認できたため、*R. naylae* と *T. claudiae* は競合関係に無く、共存関係にあることが考えられる。*R. naylae* は過去の報告と同様に、宿主ヤスデの幽門に集中して寄生する様子が確認でき (Hunt, 1996b)、宿主の腸内容物を餌としていることが示唆された。一方、*T. claudiae* は主に宿主後腸の内腔に寄生し、小さな口腔を持つ Oxyuridomorpha 下目線虫であることから腸内細菌食性だと考えられる (Phillips et al., 2016)。そのため、これら 2 種の寄生性線虫は食性と寄生部位で住み分けすることにより競合を回避している可能性が考えられる。

同じ宿主に寄生する複数の寄生虫同士が、お互いの感染頭数に正の影響や負の影響を与えることがこれまでも報告されている (Lello et al., 2004)。しかし、最近まで

のほとんどの研究が、宿主と寄生虫の一对一の関係に焦点を当てており、数少ない寄生虫間の相互関係の研究もほとんどがげっ歯類や反芻動物を対象とし、無脊椎動物は対象とされていなかった(Brian & Aldridge, 2021)。生態学的に一般的な考え方を適応すると、同じ宿主に類似した寄生虫種が多ければ多いほど、腸内寄生虫同士は宿主の腸内スペースを巡る競争により強い負の相関関係が生じる可能性があると考えられる(Dallas et al., 2019)。しかし、同じ Spirurina 亜目に属するヤスデ腸内の寄生虫 *R. naylae* と *T. claudiae* の間に負の相関関係は見られず、宿主腸内で競合することなく共存していた。そのため、この発見は動物寄生虫同士の相関関係としては珍しいものだと考えられる。また、系統的に異なる起源を持つ動物寄生虫同士の関係性が同じ宿主環境でどのように進化するのかを調べるうえで格好の研究材料であるといえる。

2-4-2. 宿主ヤスデと2つの寄生性線虫 *R. naylae* および *T. claudiae* の関係性の相違点

ミドリババヤスデに寄生する *T. claudiae* は春から夏にかけて感染率が大きく増加した(Figure 2-5)。*T. claudiae* はゴキブリ寄生性線虫と同じ Thelastomatoidea 上科に属すること、ヤスデにおいても自分や仲間の糞を食べる食糞行動は一般的であることから(Golovatch & Kime, 2009)、宿主糞便と共に排泄された卵が宿主の食糞行動により摂取されるという生活環が予測される。そのため、宿主の季節性による活性の変化から感染の機会が増減することが原因で、感染率に季節性が見られたと考えられる。

一方、*R. naylae* は季節を問わず安定して宿主ヤスデに感染していた。このことから、*R. naylae* の生活環は *T. claudiae* と異なり、宿主の季節性と無関係に安定したものだと考えられる。*R. naylae* は *T. claudiae* と異なり宿主体外で卵から孵化することが過去に研究室でも確認され、他の Rhigonematomorpha 下目線虫でも同様のことが報告され

ている(Hunt, 1996b)。さらに、幼虫の感染率が非常に高いことでも異なる。従って、*R. naylae* は宿主腸内で卵から孵化することによる自家感染を行う可能性が考えられる。また、幼虫のみ春から夏にかけて感染頭数が大きく増加したことから、*T. claudiae* 同様に感染の機会が季節により増減することが示唆された。従って、*T. claudiae* と同じような糞便を介した感染も行っていると考えられる。幼虫の感染頭数が増えても成虫の感染頭数には影響しないため、成虫の感染頭数は制御されていると考えられる。

以上のことから、ミドリババヤスデに寄生する進化的に起源の異なる2つの寄生性線虫は異なる生活環を持ち、ヤスデへの寄生の安定性に差が確認できた。*R. naylae* はより安定して宿主ヤスデに寄生しており、ヤスデ寄生性線虫のみで構成される Rhigonematomorpha 下目に所属することから、よりヤスデに特化した寄生性を発達させていると考えられる。一方、*T. claudae* は様々な節足動物に広がる Thelastomatoidea 上科の主にヤスデ寄生性線虫で構成される *Travassosinema* 属に属する(Hunt, 1993; Hunt, 1996a; Bhakat, 2020)。本属はハナムグリの幼虫を宿主とする種も確認されており(Spiridonov & Cribb, 2012)、西表島に生息するヤエヤマオオゴキブリ *Panesthia angustipennis yayeyamensis* (Asahina, 1988)から多種多様な Thelastomatidae 科線虫と共に分離したこともある(Nagae & Hasegawa, unpublished data)。そのため、*R. naylae* よりはヤスデ寄生性に特化しておらず、様々な節足動物を宿主とする幅広い寄生性を残しているか、ヤスデ専門の寄生性線虫に進化して間もない可能性が考えられる。

2-5. 表 (Table 2-1)

Table 2-1 中部大学に生息するババヤスデ科ヤスデから分離された寄生性線虫とその個体群構成

宿主	寄生性線虫	平均感染頭数 (その 95%信頼区画) 及び感染率 (N=感染頭数)				
		雄成虫	雌成虫	幼虫	総感染率	共感染率
<i>P. laminata</i> (N=113)	<i>R. naylae</i>	3.4 (2.2-4.4)	3.4 (1.9-6.0)	7.2 (4.8-9.8)	31.0%	10.6% (N=12)
		11.5% (N=13)	12.4% (N=14)	22.1% (N=25)	(N=35)	
	<i>T. claudiae</i>	1.5 (-)	1.8 (1.0-2.5)	8.1 (5.6-12.7)	27.4%	
		1.8% (N=2)	3.5% (N=4)	27.4% (N=31)	(N=31)	
<i>P. tomonina</i> species complex (N=82)	<i>R. naylae</i>	11.0 (9.4-12.7)	11.5 (10.0-13.1)	24.0 (18.4-33.1)	96.3%	72.0% (N=59)
		89.0% (N=73)	90.2% (N=74)	91.5% (N=75)	(N=79)	
	<i>T. claudiae</i>	1.9 (1.4-2.7)	5.9 (4.8-7.4)	4.5 (2.5-8.4)	72.0%	
		24.4% (N=20)	68.3% (N=56)	23.2% (N=19)	(N=59)	

各ヤスデ宿主に寄生する 2 種の寄生性線虫の雄成虫、雌成虫、幼虫それぞれの平均感染頭数 (上) と感染率 (下) を示した。総感染率はそれぞれの線虫種が発育段階や雌雄を問わず一頭でも感染している宿主の割合を、共感染率は 2 つの寄生性線虫が同様に最低 1 頭ずつ同時に感染している宿主の割合を示す。括弧内は宿主と感染率においてはその条件に該当する宿主の数を示し、平均感染頭数においてはその 95%信頼区間を示す。

2-6. 図 (Figure 2-1 ~ Figure 2-5)

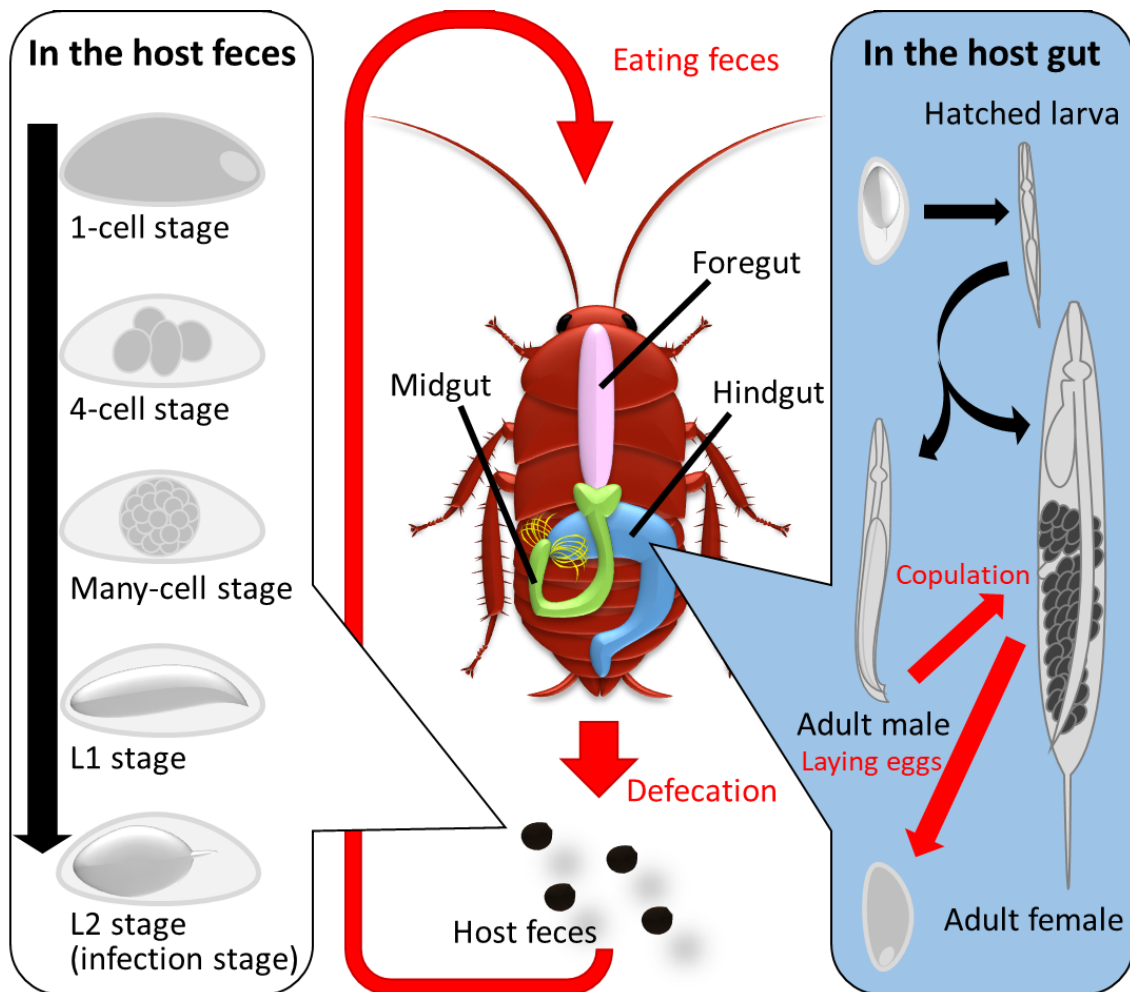
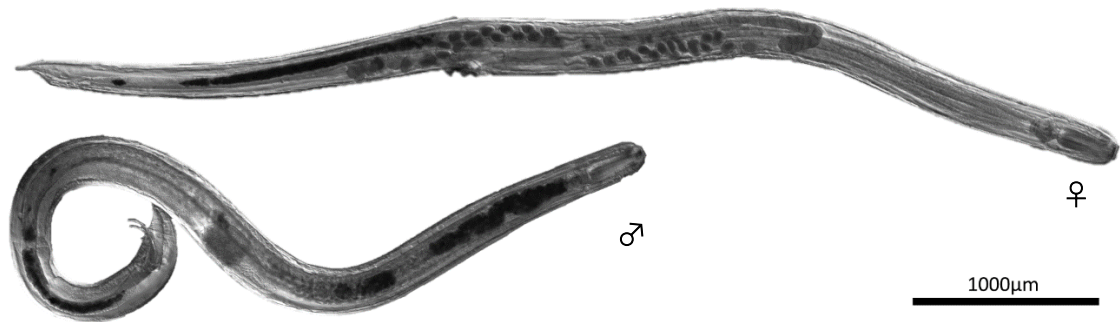


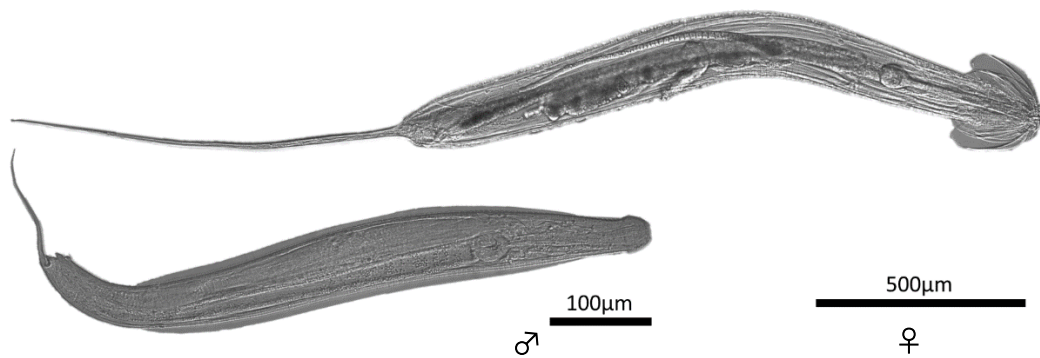
Figure 2-1 ゴキブリ寄生性線虫 *Leidyneema appendiculatum* の生活環

左の白い図形は糞と共に宿主体外に排泄された線虫卵が宿主体外で発生し、孵化することなく感染態である L2 幼虫に成長する過程を示す。右の青い図形は宿主腸内で孵化した幼虫が成熟し、雌雄で交配して次世代を産む過程を示す。Ozawa et al, 2014 および Ozawa & Hasegawa, 2018 を基に作成。

***Rhigonema naylae* Morffe & Hasegawa, 2017**



***Travassosinema claudiae* Morffe & Hasegawa, 2017**



**Figure 2-2 中部大学のババヤスデ科ヤスデに寄生する 2 つの寄生性線虫
Rhigonema naylae と *Travassosinema claudiae* のノマルスキー型微分干渉画像
これらの画像の線虫は全てミドリババヤスデから分離されたもの。**

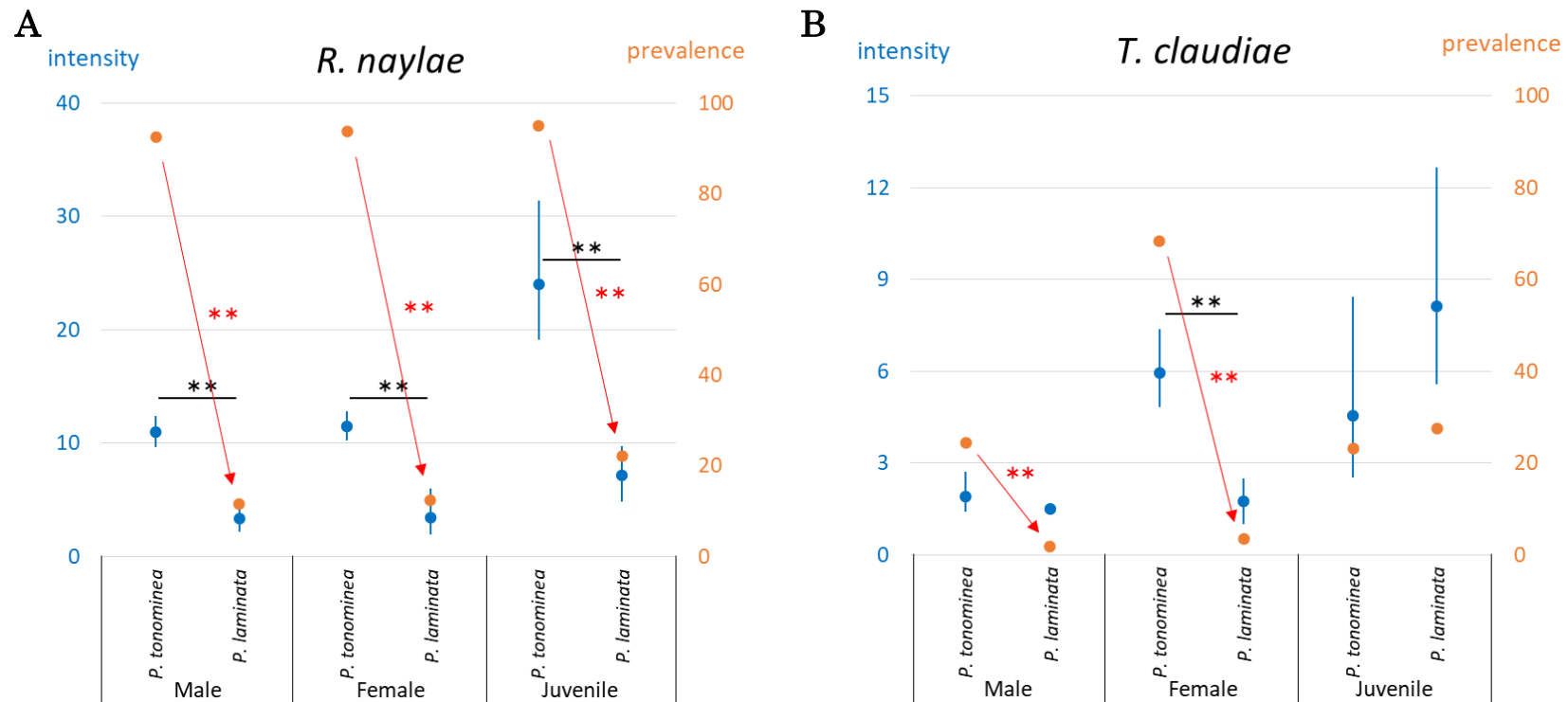


Figure 2-3 中部大学に生息するオビババヤスデとミドリババヤスデに寄生する2つの寄生性線虫の個体群構成の比較

オレンジの点と右の縦軸は感染率を表し、青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の95%信頼区間を表す。ミドリババヤスデ (*P. tonomineae*, N=82) とオビババヤスデ (*P. laminata*, N=113) のそれぞれに寄生する (A) *R. naylae* および (B) *T. claudiae* の雄成虫 (Male)、雌成虫 (Female)、幼虫 (Juvenile) それぞれの個体群構成を示した。* $p < 0.05$. ** $p < 0.005$, Fisher の正確検定 (感染率の比較) およびブートストラップ2標本 t 検定 (平均感染頭数の比較)。

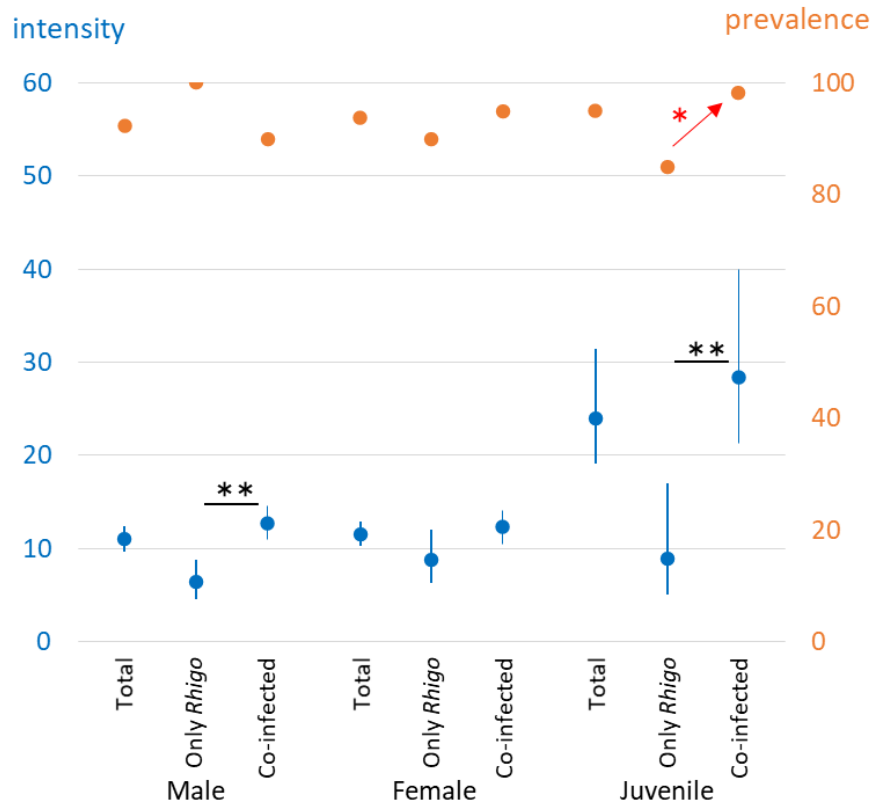


Figure 2-4 中部大学に生息するミドリババヤスデに寄生する *R. naylayae* が *T. claudiae* と共感染している場合としていない場合の個体群構成

オレンジの点と右の縦軸は感染率を表し、青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の 95%信頼区間を表す。ミドリババヤスデに寄生する *R. naylayae* 雄成虫 (Male)、雌成虫 (Female)、幼虫 (Juvenile) それぞれについて、左から宿主全体 (Total, N=82)、*R. naylayae* のみが感染する宿主 (Only *Rhigo*, N=20)、*R. naylayae* と *T. claudiae* が共感染する宿主 (Co-infected, N=59) の 3 つの感染パターンにおける個体群構成を示した。* $p < 0.05$. ** $p < 0.005$, Fisher の正確検定 (感染率の比較) およびブートストラップ 2 標本 t -検定 (平均感染頭数の比較)。

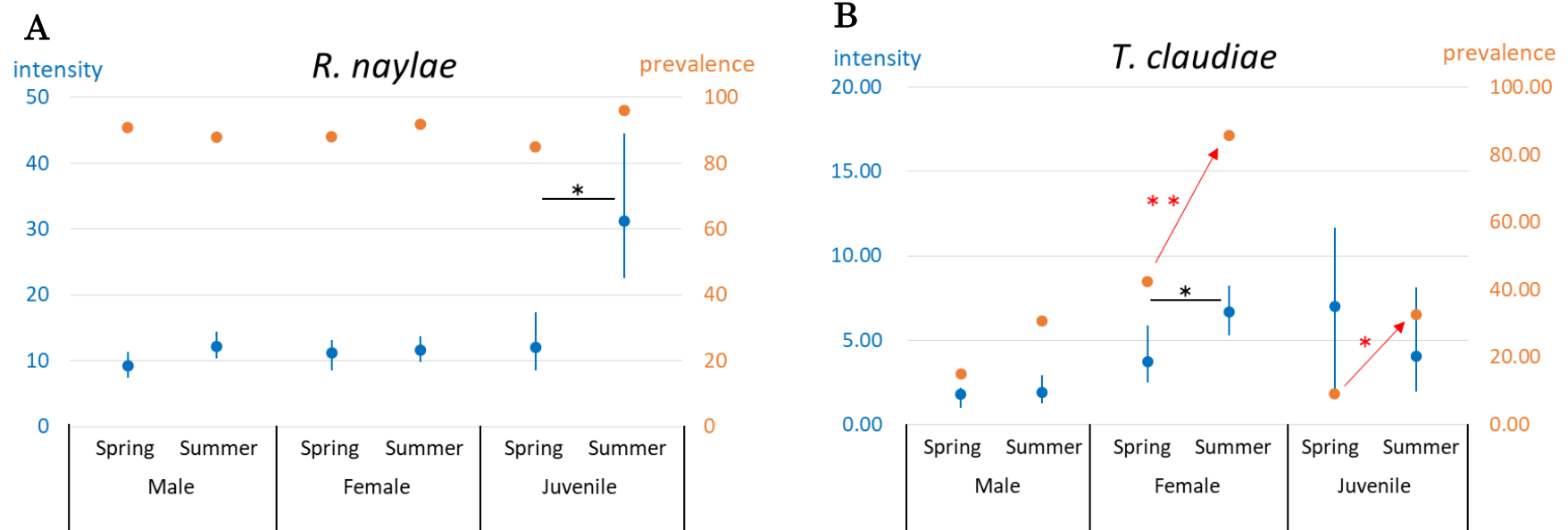


Figure 2-5 中部大学に生息するミドリババヤスデに寄生する2つの寄生性線虫の春と夏の個体群構成

オレンジの点と右の縦軸は感染率を表し、青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の95%信頼区間を表す。ミドリババヤスデに寄生する(A) *R. naylori* および(B) *T. claudiae* の雄成虫 (Male)、雌成虫 (Female)、幼虫 (Juvenile) それぞれについて、左から春 (Spring, 3月から6月, N=33) と夏 (Summer, 7月から10月, N=49) の季節における個体群構成を示した。

* $p < 0.05$. * $p < 0.005$, Fisherの正確検定(感染率の比較)およびブートストラップ2標本t検定(平均感染頭数の比較)

第3章 中部地域と九州地域に生息するババヤスデ科ヤスデに寄生する Rhigonematoidea 上科および Thelastomatoidea 上科線虫についての調査

3-1. 背景

第2章より、中部大学春日井キャンパスに生息するミドリババヤスデには進化的に起源の異なる2つの寄生性線虫 *R. naylae* と *T. caludiae* が安定して感染しており、これらの寄生性線虫は競合することなく共存関係にあることが分かった。ところで、日本国内にはババヤスデ科ヤスデが *Parafontaria* 属に加え、*Xystodesmus* 属や *Riukiaria* 属、*Levizonus* 属、*Yaetakaria* 属が知られていて、北は北海道、南は八重山諸島まで生息が確認されている (Tanabe, 1994; Korsos et al., 2011; Nakamura & Korsós, 2010)。ババヤスデ科全体の系統解析の報告によれば、*Parafontaria* 属のみが Parafontarini 族に所属し、それ以外は Xystodesmini 族に所属しているが、Xystodesmini 族では *Levizonus* 属が最も *Parafontaria* 属に近い (Means et al., 2021)。ミドリババヤスデが属する *Parafontaria* 属ヤスデの祖先は、日本が大陸と陸続きであった時代に北から日本列島に侵入したのち南へ向かって分布を拡大していき、一方で *Riukiaria* 属ヤスデの祖先は南から日本列島に侵入し、北へ向かって分布を拡大したと言われている (田辺, 私信)。例えば、*Levizonus* 属は北海道、極東ロシア、朝鮮半島に生息し、*Parafontaria* 属は関東地域から九州に生息している (Tanabe, 2002 ; Mikhaljova, 2021)。また、*Yaetakaria* 属は沖縄に生息し、*Riukiaria* 属は九州から中部地域、南西諸島、台湾、中国に生息していることが分かっている (Korsos et al., 2011; Nakamura & Korsós, 2010)。中部地域では、*Parafontaria* 属と *Riukiaria* 属が生息していて、南へ行くと *Riukiaria* 属がメインになっていることが良くわかる。

そこで第3章では、本州、四国、九州に生息するババヤスデ科ヤスデを捕獲し、そこに寄生する寄生性線虫種の調査をおこなった。

3-2. 材料と方法

3-2-1. ババヤスデ科ヤスデの採集

ババヤスデ科ヤスデの採集を本州 7 地点(岐阜県関市、岐阜県岐阜市、岐阜県山県市、岐阜県不破郡、静岡県藤枝市、静岡県静岡市、東京都八王子)、四国 1 地点(徳島県徳島市)、九州 3 地点(熊本県山鹿市、鹿児島県鹿児島市宮之浦、鹿児島県鹿児島市城山公園)の国内 11 地点で行った(Figure 3-1)。日中に採集する際は、落葉の下に隠れているヤスデを熊手で掻き出して採集した。夜間に採集する際は、ブラックライトに反応して強く蛍光を発する性質を利用して徘徊するヤスデを採集した。ブラックライト法により採集されたヤスデの大半が雄個体であったが、ヤスデ寄生性線虫は宿主の雌雄による違いが特に認められなかったため、研究上問題はないと判断した。採集した全てのヤスデは生息地の腐葉土を半分くらい入れた 340×240 mm のチャック付きポリ袋に 1 袋あたり 20 頭を上限として回収し、研究室に持ち帰るまで保冷バッグ・あるいは発泡スチロール箱に保冷剤と共にに入れて保管した。研究室に持ち帰ったヤスデは解剖を行うまで冷蔵保存した。

3-2-2. ヤスデの解剖及び寄生性線虫の分離

採集したヤスデはデジタルカメラ(Nikon COOLPIX P500, Japan)で背面と腹面から撮影し、種と雌雄を判別できる特徴を記録した。第 2 章 2-2-2 と同様の方法で解剖して、寄生する線虫種の判別および個体群構成を調査し、形態学的特徴の観察と撮影を行った。

3-2-3. アマビコヤスデ属ヤスデに寄生する 3 種の寄生性線虫の個体群構成解析

九州地域に生息するアマビコヤスデ属ヤスデからは Rhigonematoidea 上科線虫と *Travassosinema* 属線虫に加え、Thelastomatidae 科線虫が分離された。そこで、2 種類の Thelastomatoidea 上科線虫が共感染することによる影響を調べるために、(1) Rhigonematoidea 上科線虫と *Travassosinema* 属線虫が感染する宿主、(2)

Rhigonematoidea 上科線虫と *Travassosinema* 属線虫、Thelastomatidae 科線虫が感染する宿主、(3) Rhigonematoidea 上科線虫と Thelastomatidae 科線虫が感染する宿主、以上 3 つの感染パターンに分類した。1 種類のアマビコヤスデ宿主だけではこれらの感染パターン全てで十分なデータ数を得られなかったため、全てのアマビコヤスデ属ヤスデ宿主のデータを組み合わせた。これら 3 つの感染パターン間における *Travassosinema* 属線虫と Thelastomatidae 科線虫の雌成虫の感染率および感染頭数を比較した。これら 2 種において雄成虫と幼虫は感染率が非常に低かったため、比較には用いなかった。さらに、Rhigonematoidea 上科線虫の雌成虫の感染頭数も比較した。

これらの感染パターン間における各線虫種の個体群構成には有意差が確認できたため、第 2 章 2-2-3 同様にそれぞれの感染パターン間における宿主体長の t 検定を行い、 p 値にボンフェローニ補正(3 つの比較を行ったため 3 倍)をかけた。

3-2-4. ヤスデ寄生性線虫の分子系統解析

第 2 章 2-2-3 と同様の方法でヤスデ寄生性線虫の 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンスを決定した。これを NCBI(National Center for Biotechnology Information)のデータベースと照合して DNA バーコーディングを試みた。また、Rhigonematoidea 上科線虫、*Travassosinema* 属線虫、*Cephalobellus* 属線虫、Thelastomatidae 科線虫をそれぞれ第 2 章 2-2-4 と同様にペアワイズ比較した。このとき、アライメント後にギャップが生じた配列は全て除去した。

ヤスデ寄生性線虫の系統的位置を調べるために、Rhigonematomorpha 下目および Oxyuridomorpha 下目線虫の 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンスを NCBI のデータベースからダウンロードした。データベースのシーケンスと調査したヤスデ寄生性線虫のシーケンスを組み合わせて Rhigonematomorpha 下目と Oxyuridomorpha 下目に分け、第 2 章 2-2-4 と同様の方法でアライメントした。このときにギャップが生じた配列は、シーケンス全体の 20%以上でギャップとなるものを trimAl (Capella-Gutiérrez et al., 2009)で除去した。処理後のデータを MEGA11 version 11.0.30 で読み込み、最尤法により系統樹を作成した。このとき、系統樹の信頼度を高

めるために信頼度の低い枝を作るシーケンスを随時間引きながら、十分に信頼できる系統樹ができるまで作成し直した。

3-3. 結果

3-3-1. 本州のババヤスデ属ヤスデに共通して共感染する *R. naylae* および *T. claudiae*

本州ではオビババヤスデ(岐阜市)、ヒダババヤスデ(*P. longa*, 山県市)、ミドリババヤスデ(岐阜市、関市、山県市、藤枝市、八王子市)、コケイロアマビコヤスデ(*Riukiaria anachoreta*, 不破郡)、タカクワヤスデの一種(*Xystodesmus* sp. 静岡市、藤枝市、八王子市)を、四国ではミドリババヤスデとタカクワヤスデの一種(徳島市)を採集した(Figure 3-1, Table 3-1)。ミドリババヤスデは中部大学春日井キャンパスのものと形態学的に異なる3種(主に雄交尾器の形状で判断)が見られたため、それぞれ種複合体として SPCX sp. 1(中部大学春日井キャンパス)、SPCX sp. 2(岐阜市、関市)、SPCX sp. 3(山県市、藤枝市、八王子市)、SPCX sp. 4(徳島市)と分類した。八王子市以外の本州のババヤスデ属ヤスデは、中部大学春日井キャンパスのミドリババヤスデ SPCX sp. 1 およびオビババヤスデと同様に、2種類の寄生性線虫 *R. naylae* および *T. claudiae* が感染していた(Table 3-2)。また、不破郡のコケイロアマビコヤスデと徳島市のミドリババヤスデ SPCX sp. 4 は *T. claudiae* が感染していたが、*R. naylae* は感染していなかった(Table 3-2)。これらの寄生性線虫はそれぞれ 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域シーケンスの差異が同種間で 0.1%以下であるため、全て同種であると判断した(Table 3-3A, Table 3-3B, Table 3-4)。

本州のババヤスデ属ヤスデに寄生する *R. naylae* および *T. claudiae* の個体群構成は中部大学キャンパスでの調査結果と同様の傾向を示した。すなわち、*R. naylae* の感染率はどの成熟段階でも高いが、*T. claudiae* の感染率は雌成虫のみ高く、*R. naylae* よりは低かった(Table 3-2, Figure 3-5)。ミドリババヤスデはオビババヤスデよりも感染頭数や感染率が多く、*R. naylae* の感染頭数は雌雄ともに10頭前後に制御され、*T. claudiae* はそれより少なかった(Table 3-2)。これら全ての寄生性線虫の雌成虫は成熟していたため、これらのババヤスデ属ヤスデを宿主に生活環が成立していると判断した。

3-3-2. 本州のババヤスデ科ヤスデに感染する *Cephalobellus* spp.

いくつかの宿主ヤスデからは *R. naylae* や *T. claudiae* とは異なる線虫種が分離された (Table 3-2)。この線虫は形態学的に *R. naylae* および *T. claudiae* と区別が可能であり、28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域シーケンスによる DNA バーコーディングの結果と合わせて *Cephalobellus* 属線虫であると同定した。藤枝市のミドリババヤスデ SPCX sp. 3 およびタカクワヤスデから分離された *Cephalobellus* 属線虫と、それ以外の宿主ヤスデから分離された *Cephalobellus* 属線虫との間で遺伝的に大きく異なり、それぞれ *Cephalobellus* sp. 2, *Cephalobellus* sp. 1 と分類した (Table 3-3C, Table 3-4, Figure 3-3)。また、八王子市ミドリババヤスデ SPCX sp. 3 からはこれら 2 種と遺伝的に異なる新たな一種が分離され、*Cephalobellus* sp. 3 と分類した (Table 3-3C, Figure 3-3)。これら 3 種の *Cephalobellus* 属線虫はいずれも形態的に酷似しており、2 種同時に分離された八王子市ミドリババヤスデ SPCX sp. 3 ではその区別はできなかった。この線虫の感染率は、岐阜市ミドリババヤスデ SPCX sp. 2 およびオビババヤスデ、山県市ヒダババヤスデにおいて低く、そのうち 2 つは線虫のシーケンスが決定できなかった。関東地方のタカクワヤスデには *Cephalobellus* 属線虫が単独で感染していたが、四国のタカクワヤスデには寄生性線虫が感染していなかった。

Cephalobellus 属線虫の個体群構成は、同じく Thelastomatoidea 上科に属する *T. claudiae* と同様の傾向であり、雌成虫のみ感染率が高かった (Table 3-2)。*R. naylae* および *T. claudiae* が共感染する山県市産と、*Cephalobellus* spp. のみが単独感染する八王子市産のミドリババヤスデ SPCX sp. 3 は、八王子市産のほうが山県市産より体長が有意差に大きく、*Cephalobellus* spp. の感染率がやや高いものの、感染率と感染頭数に有意差は無かった (Figure 3-6)。*Cephalobellus* spp. の感染率はタカクワヤスデより優位に低く、山県市産はコケイロアマビコヤスデよりも優位に低かった (Figure 3-6)。体長はタカクワヤスデの倍近く優位に大きい、*Cephalobellus* 属線虫の感染頭数に有意差は無く、これら全てがコケイロアマビコヤスデより感染頭数が優位に少なかった (Figure 3-6)。以上のことから、*Cephalobellus* 属線虫は *R. naylae* および *T. claudiae* との共感染による悪影響を受けないが、ババヤスデ属宿主よりアマビコヤスデ属、タカク

ワヤスデ属宿主と相性が良い可能性が示された。また、山県市ミドリババヤスデ SPCX sp. 3 とコケイロアマビコヤスデには *T. claudiae* も共通して感染していたが、*Cephalobellus* 属線虫と異なり、その感染率および感染頭数には有意差は無かった (Figure 3-6)。*Cephalobellus* 属線虫も全ての雌成虫は成熟していたため、*T. claudiae* 同様これらのババヤスデ科ヤスデを宿主に正常に生活環が成立していると思われる。

3-3-3. アマビコヤスデ属ヤスデに寄生する 3 つの寄生性線虫

九州地域では、カマトゲアマビコヤスデ (*R. cornuta*, 山鹿市)、コケイロアマビコヤスデ (*R. anachoreta*, 鹿児島市宮之浦)、アマビコヤスデ (*R. semicircularis*, 鹿児島市宮之浦、城山公園) の 4 つのアマビコヤスデ属ヤスデを採集した (Figure 3-1, Table 3-1)。これら全てのアマビコヤスデ属ヤスデに共通して 3 つの寄生性線虫、*Rhigonematoidea* sp. 1、*T. claudiae*、*Thelastomatidae* spp. (sp. 1 と sp. 2) が感染していた (Table 3-4, Figure 3-2, Figure 3-3)。28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域シーケンスから *Rhigonematoidea* sp. 1 と *Thelastomatidae* sp. 1 および *Thelastomatidae* sp. 2 は恐らく未記載種であると判断した (Table 3-3A, Table 3-3D)。一方、*T. claudiae* はババヤスデ属ヤスデから分離されたものと全くの同種だった (Table 3-3B)。

これらの寄生性線虫の個体群構成はババヤスデ属ヤスデと同様の傾向を示し、*Rhigonematoidea* 上科線虫である *Rhigonematoidea* sp. 1 はどの成熟段階でも高い感染率であり、*Thelastomatoidea* 上科線虫である *T. claudiae* と *Thelastomatidae* spp. は雌成虫のみが高い感染率であった (Table 3-2, Figure 3-7)。全ての雌成虫は成熟しており、子宮内に多くの卵を確認できたため、これらの寄生性線虫はアマビコヤスデ属ヤスデを宿主に正常に生活環を成立していると思われる。

3-3-4. アマビコヤスデに寄生する *T. claudiae* と *Thelastomatidae* spp. が共感染することによる影響

同じ *Thelastomatoidea* 上科である *T. claudiae* と *Thelastomatidae* spp. が共感染することによる影響を調べるために、全てのアマビコヤスデ属ヤスデ宿主のデータを組み合わせて (1) *Rhigonematoidea* 上科線虫と *Travassosinema* 属線虫が感染する宿主、

(2) Rhigonematoidea 上科線虫と *Travassosinema* 属線虫、Thelastomatidae 科線虫が感染する宿主、(3) Rhigonematoidea 上科線虫と Thelastomatidae 科線虫が感染する宿主、以上 3 つの感染パターンに分類して比較を行った。その結果、(2)の感染パターンは(1)や(2)の感染パターンより Rhigonematoidea sp. 1、*T. claudiae*、Thelastomatidae spp. の感染頭数が大幅かつ優位に高かった (Figure 3-8, Figure 3-9)。さらに、宿主の体長が優位に大きかった (Figure 3-10)。このことから、2 つの寄生性線虫の感染と宿主の体の大きさとの間には正の相関があると分かった。ヤスデ宿主の寄生性線虫の数は宿主の大きさが大きくなるにつれて増加し、これらの寄生性線虫同士がお互いに競合して排除し合う関係ではないことを示唆していると考えた。

3-3-5. Rhigonematomorpha 下目と Oxyuridomorpha 下目におけるヤスデ寄生性線虫の系統的位置

Oxyuridomorpha 下目の系統樹を作成したところ、*T. claudiae* が所属する *Travassosinema* 属は、同じ Travassosinematidae 科のケラ寄生性線虫 *Binema* 属や *Singhiella* 属とは明確に分離し、*Cephalobellus* 属と最も近縁であることが示された。これらはクロツヤムシ寄生性線虫 Hystrignathidae 科と共にクラスター化し、Thelastomatidae 科とは明確に分離した (Figure 3-12)。一方、Thelastomatidae spp. はやはり Thelastomatidae 科に配置した。Thelastomatidae sp. 2 は Thelastomatidae sp. 1 よりワモンゴキブリを宿主とする *Thelastoma bulhoesi* と近縁だった (Figure 3-12)。

Rhigonematomorpha 下目の系統樹を作成したところ、Rhigonematoidea sp. 1 は Rhigonematoidea 上科に含まれるものの、*R. naylorae* を含む Rhigonematidae 科のクラスターから明らかに分離された (Figure 3-11)。また、今回の系統解析では Ascaridomorpha 下目をアウトグループに設定したが、両生類や爬虫類、有肺類の寄生性線虫 Cosmocercidae 科、四足動物の寄生性線虫 Heterakoidea 上科の 2 つは Rhigonematomorpha 下目内に含まれた (Figure 3-11)。Heterakoidea 上科には今回調査したヤスデのうち 3 頭から分離された *Meteterakis japonica* (Wilkie, 1930) (Figure 3-4) も含まれた。

3-4. 考察

3-4-1. ババヤスデ科ヤスデに普遍的に寄生する *Rhigonematoidea* 上科および *Thelastomatoidea* 上科線虫

本州で調査したババヤスデ属ヤスデには、一部を除き *R. naylae* および *T. claudiae* が共通して感染していた。これらの寄生性線虫の個体群構成は、中部大学春日井キャンパスにおけるミドリババヤスデと同様の傾向を示したため、ババヤスデ属全体に共通して *R. naylae* および *T. claudiae* がヤスデ腸内で競合することなく共存関係にあると考えた。

一方、本州で調査したアマビコヤスデ属やタカクワヤスデ属にはこれら 2 つの寄生性線虫が共感染することは無かった。これらを始めとする本州の一部のババヤスデ科ヤスデには *Cephalobellus* spp. が感染していた。興味深いことに、*Cephalobellus* sp. 3 は、ハナムグリ、クワガタムシ、ガガンボなどの幼虫にも感染していること、また、*Cephalobellus* 属の別種の線虫が中部大学学生駐車場に飛来したものを捕獲したケラ *Gryllotalpa orientalis* に寄生していることも分かっている (Data not shown)。さらに、世界中に拡散・定着する汎存種チャバネゴキブリ *Blattella germanica* に *C. ovumglutinosus* が寄生していたとの報告もあり (van Waerebeke, 1978)、*Cephalobellus* 属線虫は極めて広い宿主範囲を持つと分かった (加賀ら, 2023; van Waerebeke, 1978)。ババヤスデ属ヤスデのうち、ミドリババヤスデ SPCX sp. 3 にのみ *Cephalobellus* 属線虫が安定して感染し、その他タカクワヤスデ属やアマビコヤスデ属ヤスデに寄生する *Cephalobellus* 属線虫のほうが、ミドリババヤスデ宿主体内よりも安定した個体群構成であった。このことから、*Cephalobellus* spp. はタカクワヤスデ属かアマビコヤスデ属のヤスデが本来の宿主であると考えた。しかし、九州のアマビコヤスデ属ヤスデや四国のタカクワヤスデ属ヤスデには *Cephalobellus* 属線虫の感染を確認できなかったため、これらの宿主ヤスデと共に拡散してきたわけではなく、他の宿主から現在の宿主へたどり着いたものと考えた。*Cephalobellus* 属線虫はババヤスデ属ヤスデ宿主に対して安定して感染できなさそうであるが、*R. naylae* や *T. claudiae* との共感染による悪影響を確認できなかった。そのため、*Cephalobellus* 属線虫は *R. naylae* や *T. claudiae* と競合することなく共存可能であるが、宿主との相性によって宿主特異性が生じていると考え

た。

九州に生息するアマビコヤスデ属ヤスデには、*Rhigonematoidea* sp. 1、*T. claudiae*、*Thelastomatidae* spp. の3つの寄生性線虫が共通して感染していた。これらの寄生性線虫の個体群構成は、ババヤスデ属ヤスデ同様に *Thelastomatoidea* 上科線虫より *Rhigonematoidea* 上科線虫の感染率が高かった。また、同じ *Thelastomatoidea* 上科である *Thelastomatidae* spp. と *T. claudiae* の間にも競合関係はなく、3つの寄生性線虫は競合することなく共存関係にあった。このことから、本州と九州のババヤスデ科ヤスデ全体で普遍的に *Rhigonematoidea* 上科と *Thelastomatoidea* 上科の線虫が競合することなく共存していると分かった。

Rhigonematoidea 上科線虫はババヤスデ属ヤスデとアマビコヤスデ属ヤスデで異なる種が感染するが、*T. claudiae* はどちらにも共通して感染しているため、*Rhigonematoidea* 上科線虫と *Travassosinema* 属線虫ではババヤスデ科ヤスデ宿主との寄生関係を成立させる過程が異なると推測された。*Rhigonematoidea* sp. 1の宿主であるアマビコヤスデ属ヤスデは、日本が大陸と地続きだったときに南から侵入したとされており、一方で *R. naylae* の宿主であるババヤスデ属ヤスデは北から南に侵入したとされている(田辺, 私信)。そのため、それぞれの *Rhigonematoidea* 上科線虫はそれぞれの宿主ヤスデと共に異なる経路で日本に侵入したと考えられる。*T. claudiae* は本州、四国、九州の3地域のババヤスデ属とアマビコヤスデ属のヤスデに広く寄生することから、ヤスデとともに拡散したとは考えられない。そのため、*Cephalobellus* 属線虫のように他の宿主も利用することで拡散したか、鳥など移動性の高い動物に宿主ごと卵が摂取されることで遠くまで運ばれた可能性が考えられる。

3-5. 表 (Table 3-1 ~ Table 3-4)

Table 3-1. 各採取地で採集したヤスデ

愛知県春日井市中部大学	オビババヤスデ <i>P. laminata</i>
	ミドリババヤスデ種複合体種 1 <i>P. tonominea</i> SPCX sp. 1
岐阜県岐阜市金華山	オビババヤスデ <i>P. laminata</i>
	ミドリババヤスデ種複合体種 2 <i>P. tonominea</i> SPCX sp. 2
岐阜県関市百年公園	ミドリババヤスデ種複合体種 2 <i>P. tonominea</i> SPCX sp. 2
岐阜県山県市円原	ヒダババヤスデ <i>P. longa</i>
	ミドリババヤスデ種複合体種 3 <i>P. tonominea</i> SPCX sp. 3
岐阜県不破郡南宮大社	コケイロアマビコヤスデ <i>R. anachoreta</i>
静岡県藤枝市瀬戸ノ谷	タカクワヤスデの一種 <i>Xystodesmus</i> sp.
	ミドリババヤスデ種複合体種 3 <i>P. tonominea</i> SPCX sp. 3
静岡県静岡市久能山東照宮 表参道	タカクワヤスデの一種 <i>Xystodesmus</i> sp.
東京都八王子市高尾山	タカクワヤスデの一種 <i>Xystodesmus</i> sp.
	ミドリババヤスデ種複合体種 3 <i>P. tonominea</i> SPCX sp. 3
徳島県徳島市茂助ヶ原	ミドリババヤスデ種複合体種 4 <i>P. tonominea</i> SPCX sp. 4
熊本県山鹿市霜野山	カマトゲアマビコヤスデ <i>R. cornuta</i>
鹿児島県鹿児島市宮之浦	コケイロアマビコヤスデ <i>R. anachoreta</i>
	アマビコヤスデ <i>R. semicircularis</i>
鹿児島県鹿児島市城山公園	アマビコヤスデ <i>R. semicircularis</i>

採集したヤスデ宿主のうち、寄生性線虫が十分な感染率で分離されたヤスデ宿主のみを記載した。愛知県瀬戸市猿投山で採集したミドリババヤスデには *Cephalobellus* sp. 3 のみがごく低感染率で寄生していたが、偶発感染と見なしてデータは省略する。

Table 3-2. ヤスデ宿主から分離された寄生性線虫の個体群構成

宿主		寄生性線虫	感染頭数の中央値と 95%信頼区画,及び感染率				
			雄成虫	雌成虫	幼虫	総感染率	共感染率
春日井市	<i>P. laminata</i> (N=113)	<i>Rhigonema</i>	3.4 (2.2-4.4)	3.4 (1.9-6.0)	7.2 (4.8-9.8)	31.0% (N=35)	10.6% (N=12)
			11.5% (N=13)	12.4% (N=14)	22.1% (N=25)		
		<i>Travassosinema</i>	1.5 (-)	1.8 (1.0-2.5)	8.1 (5.6-12.7)	27.4% (N=31)	
			2% (N=2)	4% (N=4)	27% (N=31)		
	<i>P. tonominea</i> SPCX sp. 1 (N=82)	<i>Rhigonema</i>	11.0 (9.4-12.7)	11.5 (10.0-13.1)	24.0 (18.4-33.1)	96.3% (N=79)	72.0% (N=59)
			89.0% (N=73)	90.2% (N=74)	91.5% (N=75)		
		<i>Travassosinema</i>	1.9 (1.4-2.7)	5.9 (4.8-7.4)	4.5 (2.5-8.4)	72.0% (N=59)	
			24.4% (N=20)	68.3% (N=56)	23.2% (N=19)		
岐阜市	<i>P. laminata</i> (N=35)	<i>Rhigonema</i>	2.9 (2.2-4.2)	2.7 (1.9-3.8)	12.3 (-)	74.3% (N=26)	14.3% (N=5)
			37.1% (N=13)	37.1% (N=13)	68.6% (N=24)		
		<i>Travassosinema</i>	-	1.5 (1.0-2.0)	-	14.3% (N=5)	
			0% (N=0)	11.4% (N=4)	0% (N=0)		
		Thelastomatidae	-	1.5 (-)	-	5.7% (N=2)	
			0% (N=0)	5.7% (N=2)	0% (N=0)		
	<i>P. tonominea</i> SPCX sp. 2 (N=44)	<i>Rhigonema</i>	9.9 (7.8-12.6)	11.1 (8.9-13.7)	6.7 (4.9-9.2)	95.3% (N=41)	46.5% (N=20)
			88.6% (N=39)	88.6% (N=39)	79.5% (N=35)		
		<i>Travassosinema</i>	-	1.9 (1.5-2.4)	1.8 (1.0-2.4)	50.0% (N=22)	
			0% (N=0)	40.9% (N=18)	11.4% (N=5)		
		Thelastomatidae	-	1.5 (-)	-	4.5%	
			-	-	-		

			0% (N=0)	4.5% (N=2)	0% (N=0)	(N=2)	
関 市	<i>P. lonominia</i> SPCX sp. 2 (N=22)	<i>Rhigonema</i>	11.5 (9.6-15.3)	11.8 (9.5-14.0)	13.8 (10.4-17.9)	100% (N=22)	45.5% (N=10)
			100% (N=22)	100% (N=22)	100% (N=22)		
		<i>Travassosinema</i>	1.0 (-)	2.5 (1.4-4.6)	1.0 (-)	45.5% (N=10)	
			4.5% (N=1)	36.4% (N=8)	4.5% (N=1)		
山 県 市	<i>P. longa</i> (N=7)	<i>Rhigonema</i>	5.8 (-)	7.6 (3.4-11.8)	7.2 (3.0-16.0)	71.4% (N=5)	42.9% (N=3)
			57.1% (N=4)	71.4% (N=5)	71.4% (N=5)		
		<i>Travassosinema</i>	-	7.7 (-)	2.0 (-)	42.9% (N=3)	
			0% (N=0)	42.9% (N=3)	14.3% (N=1)		
		Thelastomatidae	-	1.0 (-)	-	14.3% (N=1)	
			0% (N=0)	14.3% (N=1)	0% (N=0)		
	<i>P. lonominia</i> SPCX sp. 3 (N=20)	<i>Rhigonema</i>	7.2 (4.9-10.3)	6.1 (4.5-7.6)	2.9 (1.9-5.2)	100% (N=20)	55.0% (N=11)
			90.0% (N=18)	95.0% (N=19)	75.0% (N=15)		
		<i>Travassosinema</i>	-	1.6 (1.2-2.3)	2.0 (-)	55.0% (N=11)	
			0% (N=0)	55.0% (N=11)	5.0% (N=1)		
		Thelastomatidae	1.0 (-)	2.0 (1.3-2.8)	1.0 (-)	40.0% (N=8)	
			5.0% (N=1)	40.0% (N=8)	15.0% (N=3)		
		Heterakoidea	-	-	1.0 (-)	10.0% (N=2)	
			0% (N=0)	0% (N=0)	10.0% (N=2)		

不破郡	<i>R. anachoreta</i> (N=15)	<i>Travassosinema</i>	1.0 (-)	2.25 (1.0-4.0)	-	33.3% (n=5)		
			6.7% (N=1)	26.7% (N=4)	0% (N=0)			
		Thelastomatidae	-	3.77 (2.8-4.5)	1.40 (-)	86.7% (N=13)		
			0% (N=0)	86.7% (N=13)	33.3% (N=5)			
藤枝市	<i>P. tonominea</i> SPCX sp. 3 (N=4)	<i>Rhigonema</i>	-	4 (-)	8.3 (1.0-15.3)	75.0% (N=3)	75.0% (N=3)	
			0% (N=0)	25.0% (N=1)	75.0% (N=3)			
		<i>Travassosinema</i>	-	2.7 (-)	1.5 (-)	75.0% (N=3)		
			0% (N=0)	75.0% (N=3)	50.0% (N=2)			
		Thelastomatidae	-	5.5 (-)	-	50.0% (N=2)		
			0% (N=0)	50.0% (N=2)	0% (N=0)			
	<i>Xystodes mus</i> sp. (N=1)	Thelastomatidae	-	1.0 (-)	-	100% (N=1)		
			0% (N=0)	100% (N=1)	0% (N=0)			
静岡市	<i>Xystodes mus</i> sp. (N=3)	Thelastomatidae	-	1.7 (-)	-	100% (N=3)		
			0% (N=0)	100% (N=3)	0% (N=0)			
八王子市	<i>P. tonominea</i> SPCX sp. 3 (N=31)	Thelastomatidae	-	1.9 (1.5-2.2)	-	64.5% (N=20)		
			0% (N=0)	64.5% (N=20)	0% (N=0)			

	<i>Xystodesmus</i> sp. (N=33)	Thelastomatidae	1.00 (-) 6.1% (N=2)	1.6 (1.3-1.8) 87.9% (N=29)	- 0% (N=0)	87.9% (N=29)	
徳島市	<i>P. tonominea</i> SPCX sp. 4 (N=3)	<i>Travassosinema</i>	- 0% (N=0)	3.0 (-) 66.7% (N=2)	- 0% (N=0)	66.7% (N=2)	
山鹿市	<i>R. cornuta</i> (N=31)	<i>Rhigonema</i>	18.4 (15.1-22.0) 100% (N=31)	26.6 (22.0-32.4) 100% (N=31)	12.1 (9.0-16.2) 100% (N=31)	100% (N=31)	83.9% (N=26)
		<i>Travassosinema</i>	1.0 (-) 12.9% (N=4)	5.2 (4.0-6.7) 83.9% (N=26)	2.0 (-) 3.2% (N=1)	83.9% (N=26)	
		Thelastomatidae	1.0 (-) 3.2% (N=1)	3.4 (2.7-4.5) 87.1% (N=27)	- 0% (N=0)	87.1% (N=27)	
鹿児島市宮之浦	<i>R. anachoreta</i> (N=20)	<i>Rhigonema</i>	8.6 (6.5-11.1) 95.0% (N=19)	10.3 (8.2-13.5) 95.0% (N=19)	2.8 (1.9-3.7) 80.0% (N=16)	95.0% (N=19)	55.0% (N=11)
		<i>Travassosinema</i>	- 0% (N=0)	4.0 (2.3-6.3) 60.0% (N=12)	- 0% (N=0)	60.0% (N=12)	
		Thelastomatidae	-	2.7 (1.6-5.1)	-	65.0%	

鹿児島市城山公園	<i>R. semicircularis</i> (N=9)		0% (N=0)	65.0% (N=13)	0% (N=0)	(N=13)	44.4% (N=4)
		<i>Rhigonema</i>	5.7 (3.9-9.1)	7.2 (4.6-9.9)	5.3 (1.7-13.3)	100% (N=9)	
			100% (N=9)	100% (N=9)	66.7% (N=6)		
		<i>Travassosinema</i>	-	2.0 (-)	-	44.4% (N=4)	
			0% (N=0)	44.4% (N=4)	0% (N=0)		
		Thelastomatidae	-	1.5 (1.0-2.0)	-	44.4% (N=4)	
			0% (N=0)	44.4% (N=4)	0% (N=0)		
	<i>R. semicircularis</i> (N=38)	<i>Rhigonema</i>	5.5 (4.5-6.5)	6.9 (5.9-8.2)	3.7 (3.0-4.4)	97.4% (N=37)	57.9% (N=22)
			97.4% (N=37)	94.7% (N=36)	81.6% (N=31)		
		<i>Travassosinema</i>	-	2.1 (1.7-2.5)	1.0 (-)	60.5% (N=23)	
			0% (N=0)	57.9% (N=22)	5.3% (N=2)		
		Thelastomatidae	1.0 (-)	1.4 (1.1-1.8)	1.5 (-)	44.7% (N=17)	
			7.9% (N=3)	42.1% (N=16)	5.3% (N=2)		
		Heterakoidea	-	-	1.0 (-)	2.6% (N=1)	
			0% (N=0)	0% (N=0)	2.6% (N=1)		

各ヤスデ宿主に寄生する寄生性線虫の雄成虫、雌成虫、幼虫それぞれの平均感染頭数(上)と感染率(下)を示した。総感染率はそれぞれの線虫種が発育ステージや雌雄を問わず一頭でも感染している宿主の割合を、共感染率は 2 つの寄生性線虫が同様に最低 1 頭ずつ同時に感染している宿主の割合を示し、宿主ヤスデの大部分に共通して分離された *Rhigonema* 属と *Travassosinema* 属の線虫の共感染率のみを示した。括弧内は、感染率では感染していた宿主の数を示し、平均感染頭数ではその 95%信頼区間を示す。- は感染が確認できなかったことを示し、95%信頼区間では感染頭数にばらつきが全くないため区間が存在しないこと、あるいはサンプル数が不足しているため 95%の信頼度で区間を算出できなかったことを示している。

Table 3-3 ヤスデ寄生性線虫のペアワイズ比較

Table 3-3A Rhigonematoidea 上科線虫のペアワイズ比較

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1											
2	100										
3	100	100									
4	100	100	100								
5	100	100	100	100							
6	100	100	100	100	100						
7	100	100	100	100	100	100					
8	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9				
9	88.5	88.5	88.5	88.5	88.5	88.5	88.5	88.7			
10	88.4	88.4	88.4	88.4	88.4	88.4	88.4	88.5	99.9		
11	88.5	88.5	88.5	88.5	88.5	88.5	88.5	88.4	99.7	99.9	
12	88.4	88.4	88.4	88.4	88.4	88.4	88.4	88.5	99.9	100	99.9

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンス 715 bp より作成した。各数字は以下の宿主ヤスデから分離された線虫のシーケンスを示し、2 つの数字が交差するセルはその 2 つのシーケンスの一致率(シーケンスの長さ(bp)に対するシーケンス中の一致数の割合)(%)を示す。アマビコヤスデ属ヤスデに寄生する線虫は NCBI のデータベースにて高い相同性の既知種のシーケンスがヒットしなかったため、Rhigonematoidea 上科までで同定をとどめた。

- 1_春日井市ミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp. 1 から分離
- 2_春日井市オビババヤスデ *P. laminata* から分離
- 3_関市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離
- 4_岐阜市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離
- 5_岐阜市オビババヤスデ *P. laminata* から分離
- 6_山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離
- 7_山県市ヒダババヤスデ *P. longa* から分離
- 8_藤枝市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離
- 9_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離
- 10_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離
- 11_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離
- 12_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Tabel 3-3B. *Travassosinema* 属線虫のペアワイズ比較

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1													
2	100												
3	100	100											
4	100	100	100										
5	100	100	100	100									
6	100	100	100	100	100								
7	100	100	100	100	100	100							
8	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9						
9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	100					
10	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	100	100				
11	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	100	100	100			
12	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	100	100	100	100		
13	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	100	100	100	100	100	
14	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	100	100	100	100	100	100

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンス 710 bp より作成した。各数字は以下の宿主ヤスデから分離された線虫のシーケンスを示し、2 つの数字が交差するセルはその 2 つのシーケンスの一致率(シーケンスの長さ(bp)に対するシーケンス中の一致数の割合)(%)を示す。

1_春日井市ミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp. 1 から分離

2_春日井市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

3_関市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離

4_岐阜市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離

5_岐阜市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

6_山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

- 7_山県市ヒダババヤスデ *P. longa* から分離
- 8_不破郡コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離
- 9_藤枝市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離
- 10_徳島市ミドリババヤスデ種複合体種 4 *P. tonominea* SPCX sp. 4 から分離
- 11_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離
- 12_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離
- 13_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離
- 14_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Table 3-3C *Cephalobellus* 属線虫のペアワイズ比較

	1	2	3	4	5	6	7	8
1								
2	100							
3	99.7	99.7						
4	99.7	99.7	100					
5	99.7	99.7	100	100				
6	99.7	99.7	100	100	100			
7	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6		
8	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	100	
9	89.7	89.7	89.4	89.4	89.4	89.4	92.4	92.4

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンス 738 bp より作成した。各数字は以下の宿主ヤスデから分離された線虫のシーケンスを示し、2 つの数字が交差するセルはその 2 つのシーケンスの一致率(シーケンスの長さ(bp)に対するシーケンス中の一致数の割合)(%)を示す。

1_ 岐阜市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

2_ 山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

3_ 不破郡コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離

4_ 静岡市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

5_ 八王子市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

6_ 八王子市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

7_ 藤枝市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

8_ 藤枝市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

9_ 八王子市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離(2種目)

1 から 6 の寄生性線虫は NCBI のデータベースにて *Cephalobellus brevicaudatus* (Carreno et al. 2018, MF668725.1) と 92.2 ~ 92.3% (669 ~ 671 / 727 bp) で最も一致したため *Cephalobellus* 属線虫であると同定し、暫定的に *Cephalobellus* sp. 1 と分類した。これらと同所的に生息する岐阜市のミドリババヤスデ SPCX sp. 2 と山県市のヒダババヤスデから分離された線虫については、サンプル数が少ないためシーケンスが決定できなかったものの、形態学的特徴から同種であると思われる。7 および 8 の寄生性線虫も同様に *Cephalobellus brevicaudatus* と 91.6% (697 / 761 bp) で最も一致しており、1 から 6 の寄生性線虫と形態的に酷似していることから *Cephalobellus* sp. 2 と分類した。9 の寄生性線虫は *Cephalobellus* sp. 2 と 92.4% (682 / 738 bp) でデータベース上の寄生性線虫より一致し、*Cephalobellus* sp. 1 および *Cephalobellus* sp. 2 と形態的に酷似していることから *Cephalobellus* sp. 3 と分類した。

Table 3-3D. Thelastomatidae 科線虫のペアワイズ比較

	1	2	3
1			
2	90.2		
3	90.2	100	
4	90.2	100	100

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンス 716 bp より作成した。各数字は以下の宿主ヤスデから分離された線虫のシーケンスを示し、2 つの数字が交差するセルはその 2 つのシーケンスの一致率(シーケンスの長さ(bp)に対するシーケンス中の一致数の割合)(%)を示す。

1_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離

2_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離

3_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

4_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

これらの寄生性線虫は NCBI のデータベースにて *Thelastoma bulhoesi* (Ozawa et al. 2018, KP172225.1)、*Stauratostoma shelleyi* (Phillips et al. 2018, MH016661.1)、*Aorurus agile* (Morffe et al. 2019, MN190721.1)などの Thelastomatidae 科線虫と 87% (669/769 bp) から 92% (579/631 bp) 一致したため、Thelastomatidae 科までで同定をとどめた。

Table 3-3E. Heterakoidea 上科線虫のペアワイズ比較

	1
1	
2	99.7

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンス 747 bp より作成した。1 は山形県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 から、2 は鹿児島市城山公園アマビコヤスデから分離された線虫のシーケンスを示し、1 と 2 が交差するセルはその 2 つのシーケンスの一致率(シーケンスの長さ(bp)に対するシーケンス中の一致数の割合)(%)を示す。

1 および 2 の寄生性線虫は NCBI のデータベースにて *Meteterakis japonica* (Sata, 2018) (LC185982.1 および LC185998.1) と 100%(688 / 688 bp および 652 / 652 bp) で完全に一致したため *Meteterakis japonica* であると同定した。1 と一致したシーケンスは福井県福井市のヒガシニホントカゲ *Plestiodon finitimus* から分離されたもので、他に群馬県高崎市 (LC185978.1)、山梨県甲府市 (LC185981.1)、東京都八王子市 (LC185979.1) のヒガシニホントカゲ、兵庫県南あわじ市のニホントカゲ *Plestiodon japonicus* (LC185983.1)、静岡県伊豆の国市のオカダトカゲ *Plestiodon latiscutatus* (LC185980.1) から分離されたものとも完全に一致した(Sata, 2018)。一方、2 と一致したシーケンスは鹿児島県薩摩川内市のニホントカゲから分離されたもので、本州と九州の線虫で遺伝的に若干異なる。

Table 3-4. 各採取地のヤスデから分離された寄生性線虫の種

採取地	宿主ヤスデ種	寄生性線虫種
春日井市	オビババヤスデ <i>Parafontaria laminata</i>	<i>Rhigonema naylae</i>
		<i>Travassosinema claudiae</i>
	ミドリババヤスデ種複合体種 1 <i>Parafontaria tonominea</i> SPCX sp. 1	<i>Rhigonema naylae</i>
		<i>Travassosinema claudiae</i>
岐阜市	オビババヤスデ <i>Parafontaria laminata</i>	<i>Rhigonema naylae</i>
		<i>Travassosinema claudiae</i>
		<i>Cephalobellus</i> sp. 1
	ミドリババヤスデ種複合体種 2 <i>Parafontaria tonominea</i> SPCX sp. 2	<i>Rhigonema naylae</i>
		<i>Travassosinema claudiae</i>
関市	ミドリババヤスデ種複合体種 2 <i>Parafontaria tonominea</i> SPCX sp. 2	<i>Cephalobellus</i> sp. 1※
		<i>Rhigonema naylae</i>
山県市	ヒダババヤスデ <i>Parafontaria longa</i>	<i>Travassosinema claudiae</i>
		<i>Rhigonema naylae</i>
		<i>Cephalobellus</i> sp. 1※
	ミドリババヤスデ種複合体種 3 <i>Parafontaria tonominea</i> SPCX sp. 3	<i>Travassosinema claudiae</i>
		<i>Cephalobellus</i> sp. 1
		<i>Meteterakis japonica</i>
		<i>Rhigonema naylae</i>
不破郡	コケイロアマビコヤスデ <i>Riukiaria anachoreta</i>	<i>Travassosinema claudiae</i>
		<i>Cephalobellus</i> sp. 1
藤枝市	ミドリババヤスデ種複合体種 3 <i>Parafontaria tonominea</i> SPCX sp. 3	<i>Rhigonema naylae</i>
		<i>Travassosinema claudiae</i>
		<i>Cephalobellus</i> sp. 2
静岡市	タカクワヤスデの一種 <i>Xystodesmus</i> sp.	<i>Cephalobellus</i> sp. 2
		<i>Cephalobellus</i> sp. 1
八王子市	ミドリババヤスデ種複合体種 3 <i>Parafontaria tonominea</i> SPCX sp3	<i>Cephalobellus</i> sp. 1
		<i>Cephalobellus</i> sp. 3
	タカクワヤスデの一種 <i>Xystodesmus</i> sp.	<i>Cephalobellus</i> sp. 1
徳島市	ミドリババヤスデ種複合体種 4 <i>Parafontaria tonominea</i> SPCX sp4	<i>Travassosinema claudiae</i>

山鹿市	カマトゲアマビコヤスデ <i>Riukiaria cornuta</i>	Rhigonematoidea sp. 1
		<i>Travassosinema claudiae</i>
		Thelastomatidae sp. 1
鹿児島市 宮之浦	コケイロアマビコヤスデ <i>Riukiaria anachoreta</i>	Rhigonematoidea sp. 1
		<i>Travassosinema claudiae</i>
		Thelastomatidae sp. 2
	アマビコヤスデ <i>Riukiaria semicircularis</i>	Rhigonematoidea sp. 1
		<i>Travassosinema claudiae</i>
		Thelastomatidae sp. 2
鹿児島市 城山公園	アマビコヤスデ <i>Riukiaria semicircularis</i>	Rhigonematoidea sp. 1
		<i>Travassosinema claudiae</i>
		Thelastomatidae sp. 2
		<i>Meteterakis japonica</i>

これらの寄生性線虫は、形態学的観察と、28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域を用いた NCBI のデータベースとの照合およびペアワイズ比較の結果 (Table 3-3) に基づいて同定した。

※シーケンス解析に成功していないが、同所的に生息するヤスデに寄生するものと形態的特徴が一致するため *Cephalobellus* sp. 1 だと判断した。

3-6. 図 (Figure 3-1 ~ Figure 3-12)

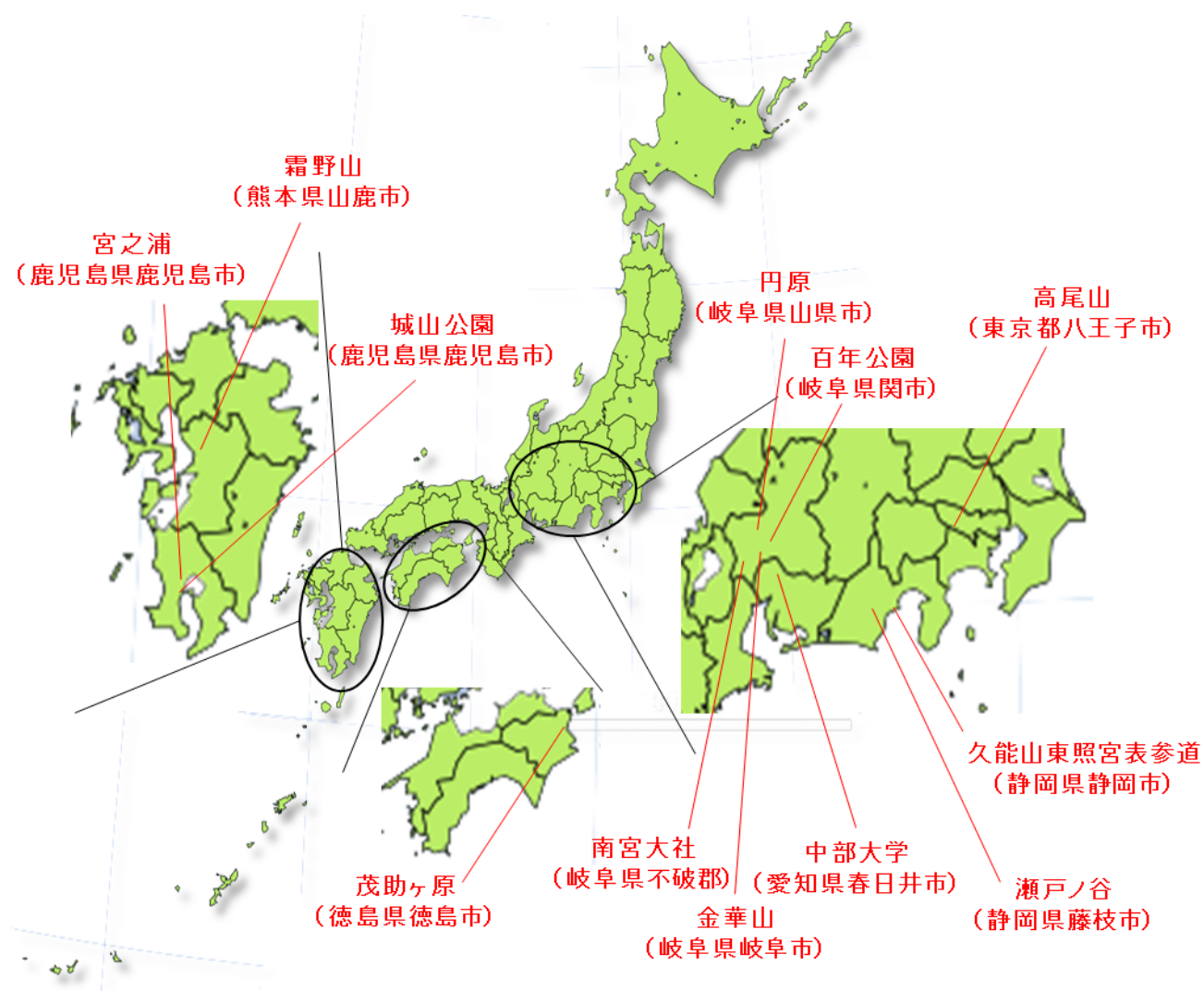


Figure 3-1. 国内 7 地点のヤスデ採集地点

中部大学、金華山、百年公園、円原、久能山東照宮表参道、霜野山、宮之浦の採取地では日中に落葉の下のヤスデを熊手で掻き分けて採集した。高尾山、城山公園では夜間に徘徊するヤスデをブラックライトの照射により蛍光させて探し出し採集した。瀬戸ノ谷、茂助ヶ原のヤスデは、アース製薬株式会社の角野智紀さんのご厚意により採集およびご提供いただいた。

Rhigonematoidea sp. 1

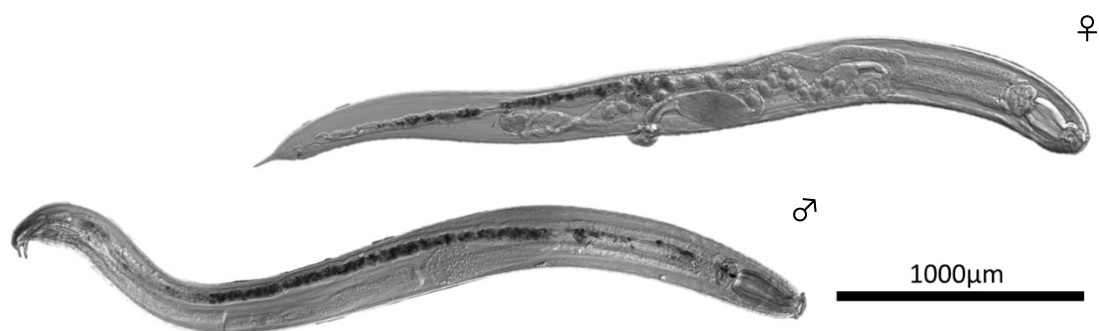
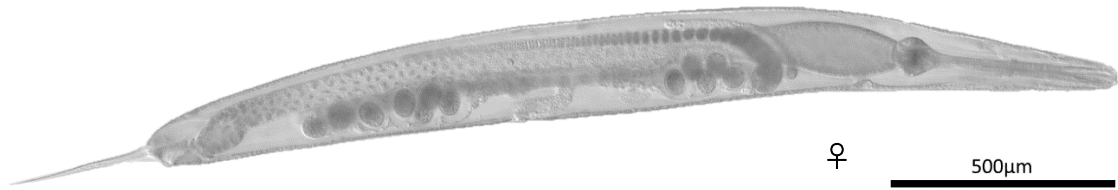
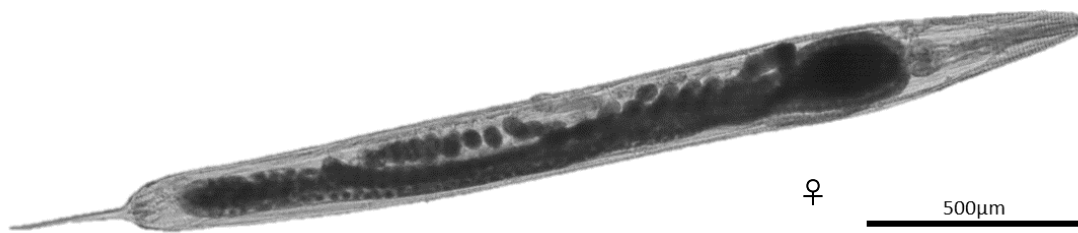


Figure 3-2. ヤスデから分離された Rhigonematoidea 上科線虫
図の個体は山鹿市カマトゲアマビコヤスデから分離したもの。

***Cephalobellus* sp. 1**



***Cephalobellus* sp. 2**



***Cephalobellus* sp. 3**



***Thelastomatidae* sp. 1**



Thelastomatidae sp. 2



Figure 3-3. ヤスデから分離された Thelastomatoidea 上科線虫

図の個体は *Cephalobellus* sp. 1 が山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 から、*Travassosinematidae* sp. 1 が八王子市ミドリババヤスデ種 3 から、*Thelastomatidae* sp. 1 が山鹿市カマトゲアマビコヤスデから、*Thelastomatidae* sp. 2 が藤枝市ミドリババヤスデ種複合体種 3 から *Thelastomatidae* sp. 2 が鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデから分離したもの。*Travassosinematidae* sp. 1 は口周辺のクチクラが膨らみ、変形している。

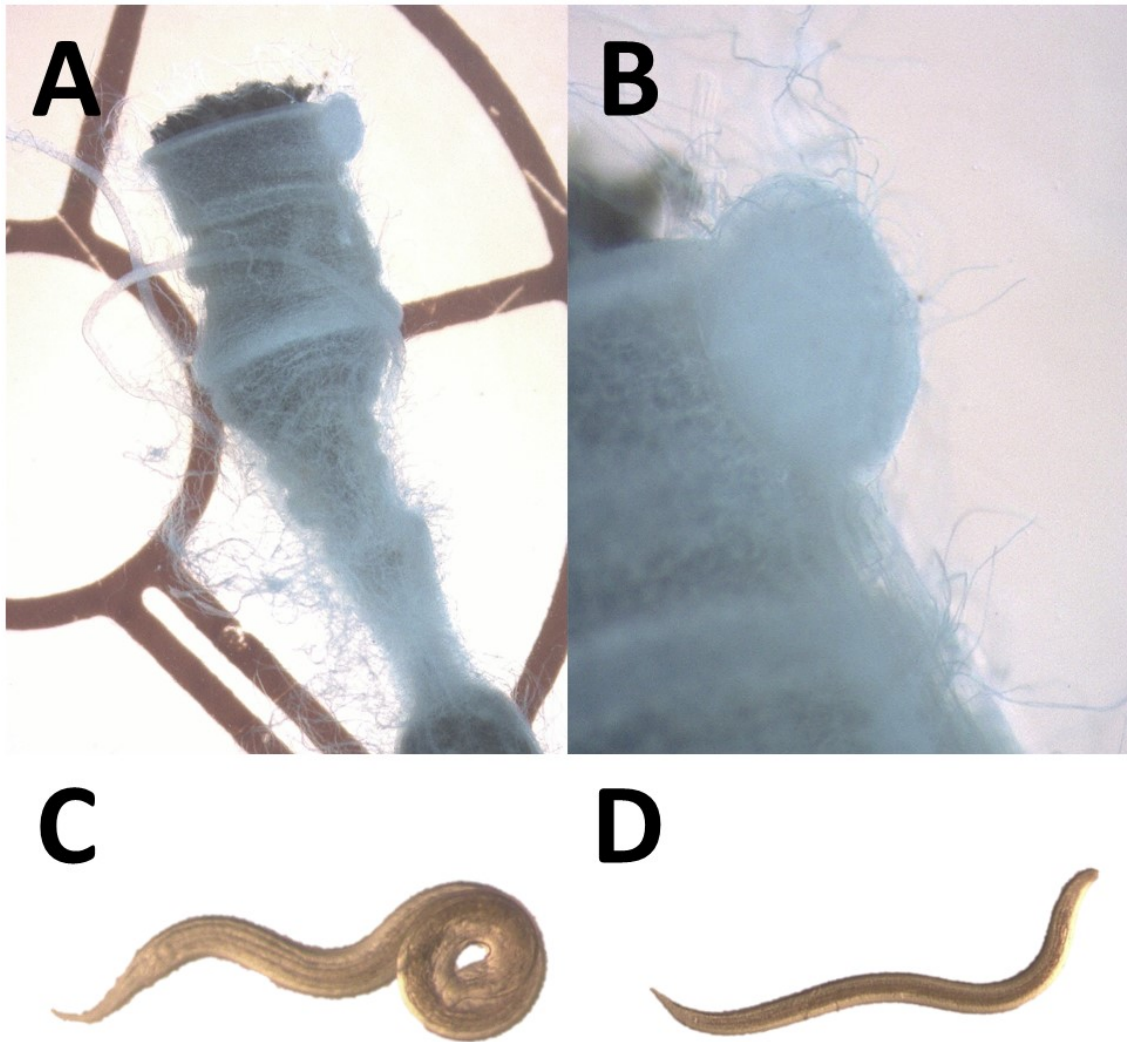


Figure 3-4. ヤスデから分離された Heterakoidea 上科線虫 *Meteterakis japonica* の幼虫

宿主ヤスデの前腸外部に形成されたシスト(A)と、その拡大図(B)、およびそこから分離された寄生性線虫(C, D)を示した。図の線虫はそれぞれ鹿児島市城山公園アマビコヤスデの腸(A, B)から分離したもの(C)と、円原ミドリババヤスデ種複合体種 3 から分離されたもの(D)で、シスト内にコイル状に丸まって収まっていた。

これらの図は双眼実体顕微鏡(SMZ800, Nikon, Japan)で観察しながら解剖を行い、CMOS カメラ(HD Lite, Relyon, Japan)で撮影したもの。

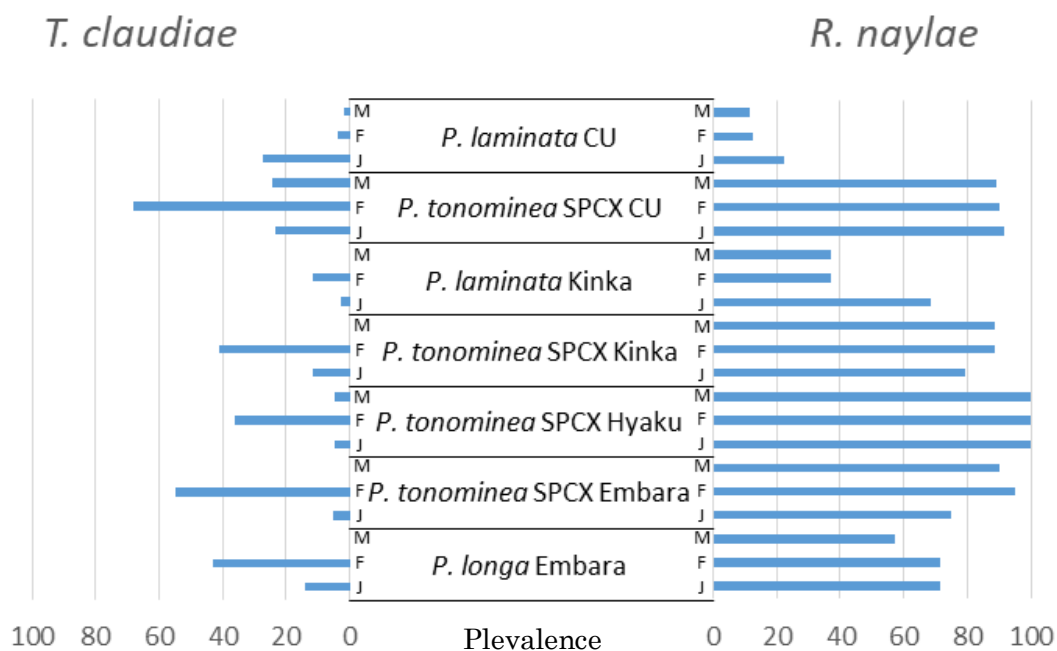


Figure 3-5. 中部地域のババヤステ属ヤステにおける 2 つの寄生性線虫の雄成虫 (M)、雌成虫 (F)、幼虫 (J) の感染率

中部大学春日井キャンパスと岐阜県の 3 地点にて採集された 7 つのババヤステ属ヤステ宿主に感染する *R. naylae* (右) と *T. claudiae* (左) の雄成虫 (M)、雌成虫 (F)、幼虫 (J) の感染率を示した。他の本州のババヤステ属ヤステは、解剖頭数が少ないものや、*R. naylae* と *T. claudiae* が寄生していないものであるため除外した。

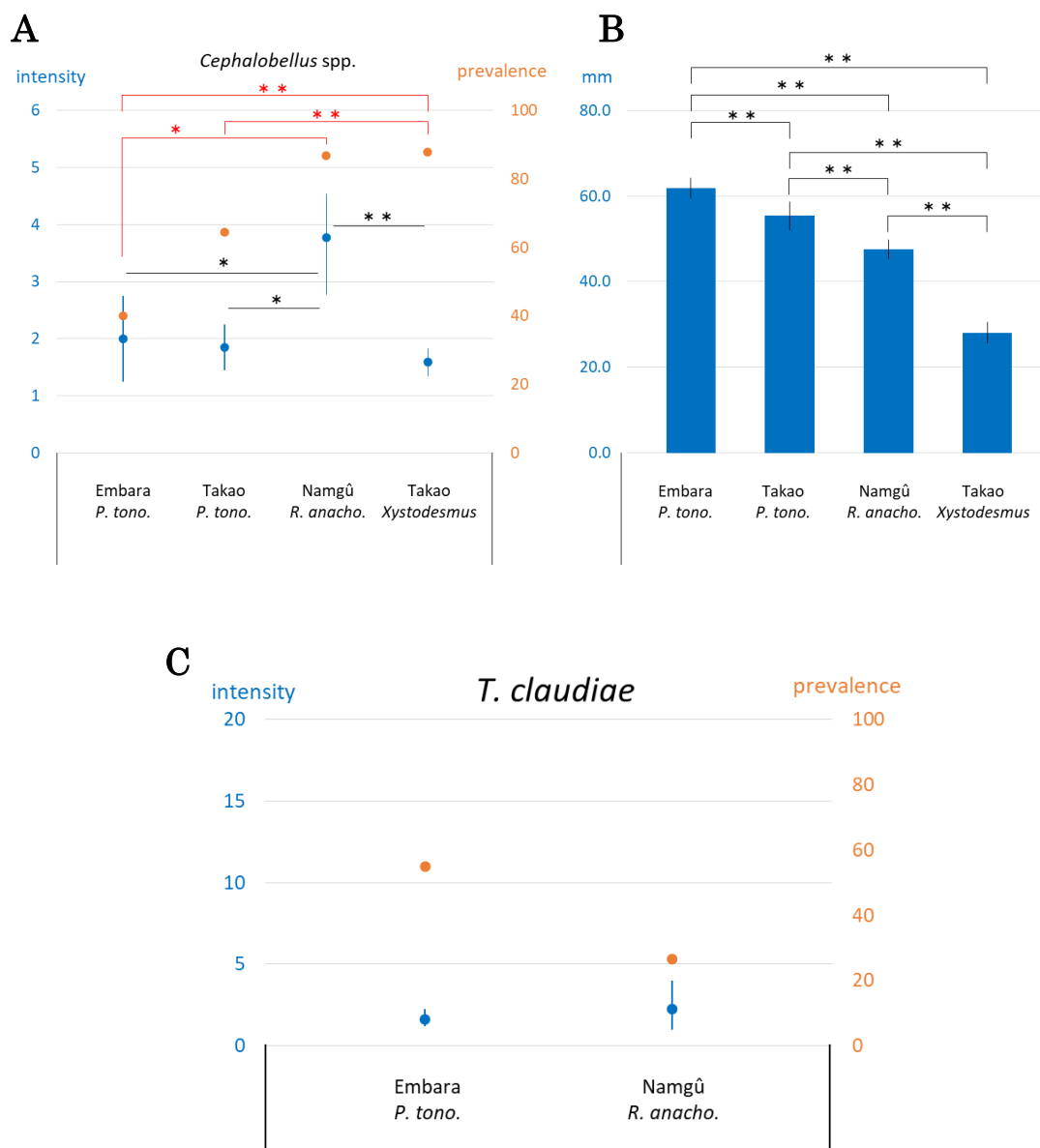


Figure 3-6. 本州のババヤステ科ヤステにおける属ごとの *Cephalobellus* spp. の個体群構成

本州のババヤステ科ヤステから分離された (A) *Cephalobellus* spp. の雌成虫の個体群構成と、(B) 宿主ヤステの体長、(C) 同時に分離された *T. claudiae* の雌成虫の個体群構成を示した。(A) (C) オレンジの点と右の縦軸は感染率を表し、青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の 95% 信頼区間を表す。(B) 棒グラフと縦軸は体長平均を表し、エラーバーは標準偏差を示す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, (A, C) Fisher の正確検定(感染率の比較)とブートストラップ 2 標本 t 検定(平均感染頭数の比較)、(B) ボンフェローニ補正をかけた t 検定(体長の比較)。

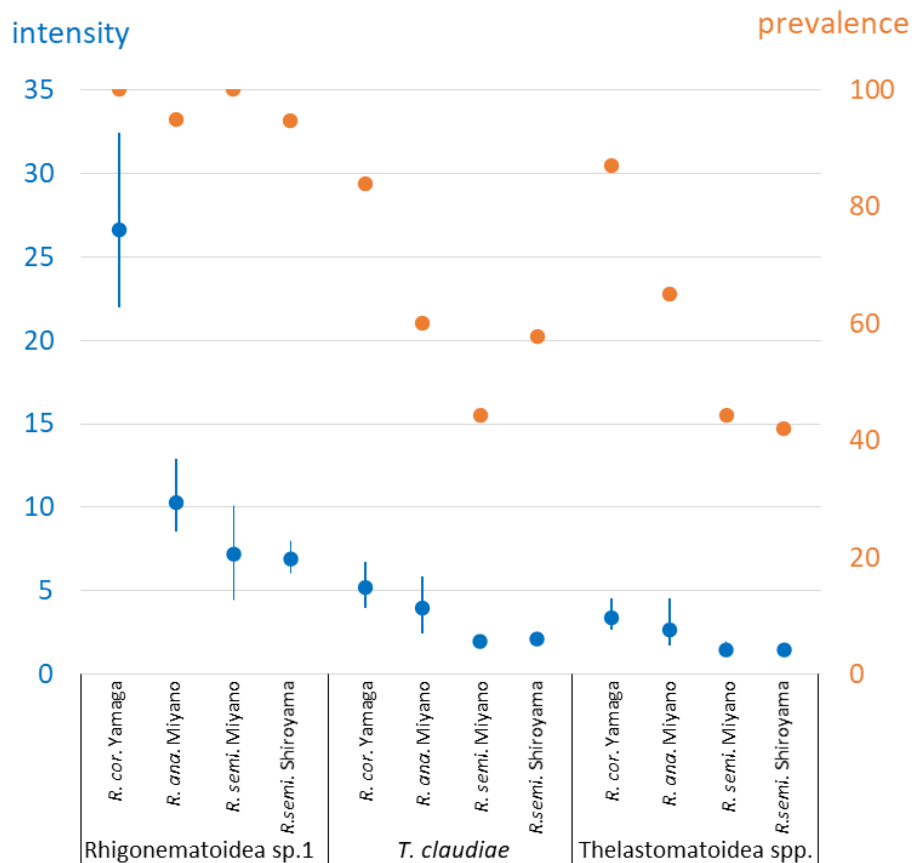


Figure 3-7. アマビコヤスデ属ヤスデに感染する3つの寄生性線虫の個体群構成

オレンジの点と右の縦軸は感染率を表し、青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の95%信頼区間を表す。4つのアマビコヤスデ属ヤスデ宿主における *Rhigonematoidea* sp. 1、*T. claudiae*、*Thelastomatidae* spp. の雌成虫の個体群構成を示した。

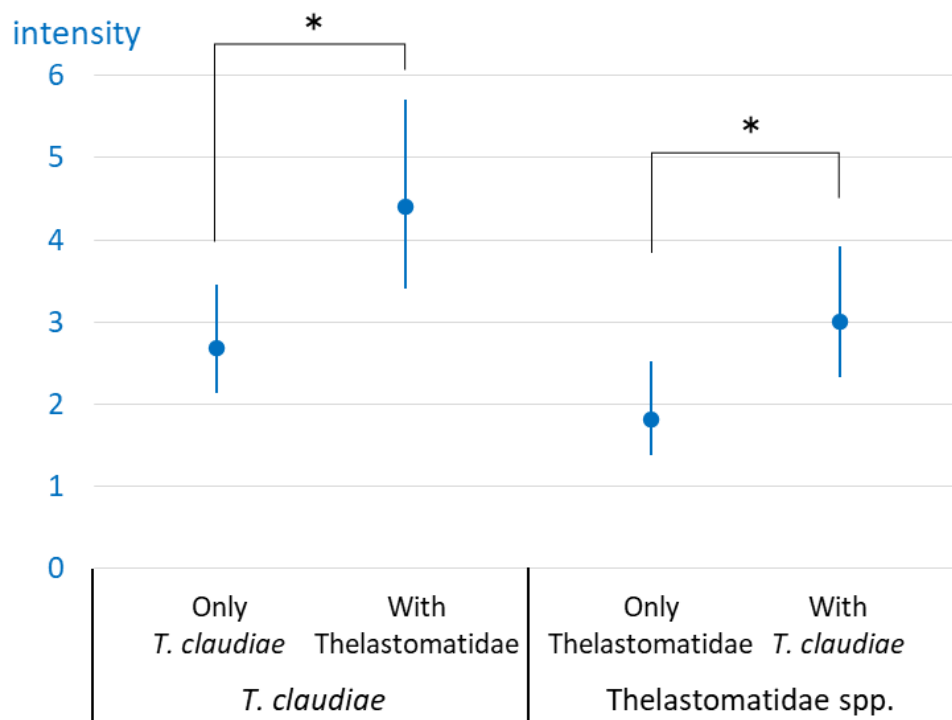


Figure 3-8. アマビコヤスデ属ヤスデに寄生する *T. claudiae* および *Thelastomatidae* spp. が共感染している場合と共感染していない場合におけるそれぞれの個体群構成

青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の 95%信頼区間を表す。4 つのアマビコヤスデ属ヤスデ宿主全てを組み合わせ、*T. claudiae* と *Thelastomatidae* spp. が共感染している場合 (With, N=40) と単独で感染している場合 (Only, *T. claudiae* は N=22, *Thelastomatidae* spp. は N=21) におけるそれぞれの雌成虫の感染頭数を示した。Rhigonematoidea sp. 1 が感染していない宿主はごく少数であったため、条件を揃えるために感染している宿主に限った。* $p < 0.05$, ブートストラップ 2 標本 t-検定 (平均感染頭数の比較)。

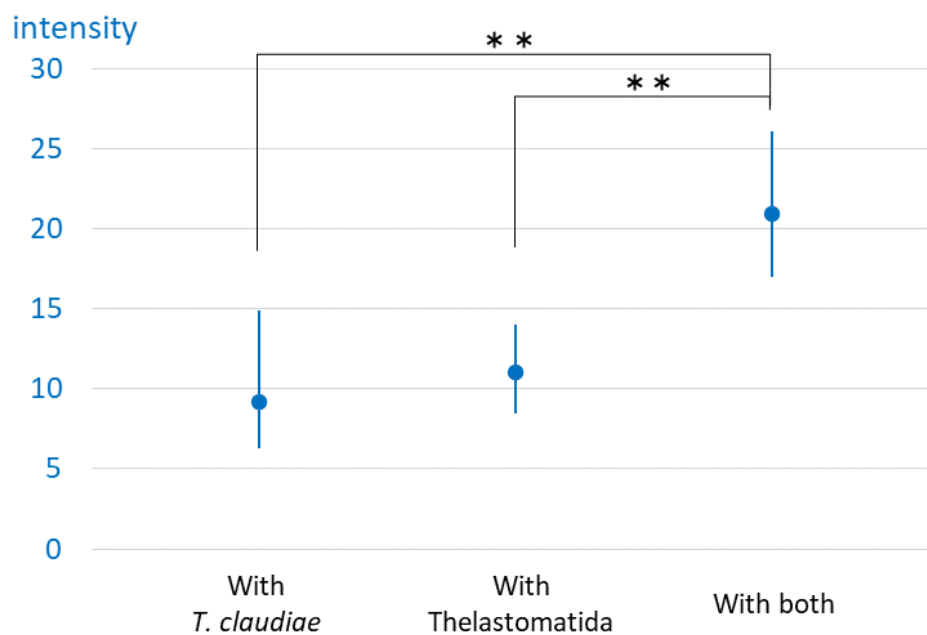


Figure 3-9. アマビコヤスデ属ヤスデにおける *T. claudiae* および Thelastomatidae spp. が感染することによる Rhigonematoidea sp. 1 の感染頭数への影響

青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の 95%信頼区間を表す。4 つのアマビコヤスデ属ヤスデ宿主全てを組み合わせ、*T. claudiae* のみが感染する共場合 (With *T. claudiae*, N=22)、Thelastomatidae spp. のみが感染する共場合 (With Thelastomatidae, N=21)、*T. claudiae* と Thelastomatidae spp. が共感染している場合 (With both, N=40) における Rhigonematoidea sp. 1 の雌成虫の感染頭数を示した。* $p < 0.005$, ブートストラップ 2 標本 t-検定 (平均感染頭数の比較)。

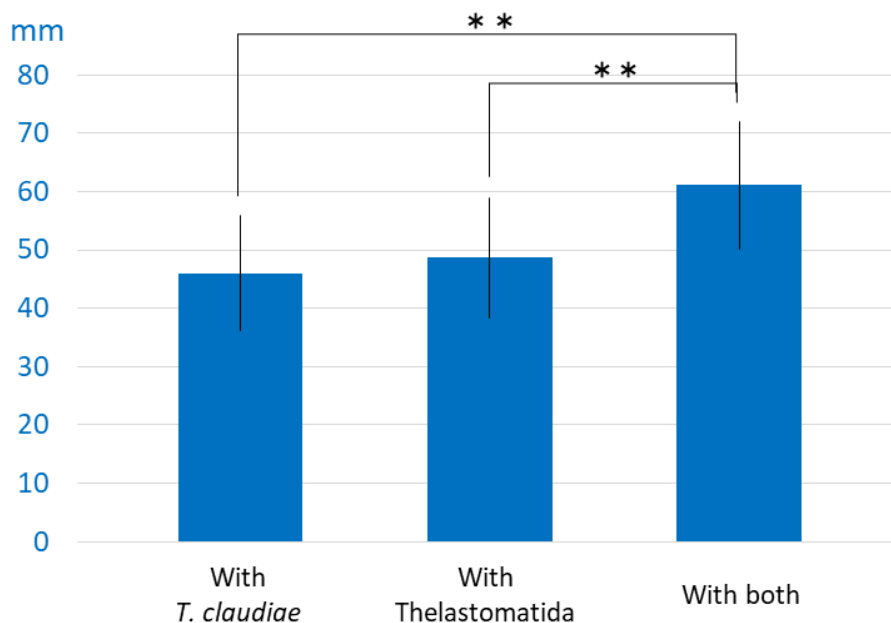


Figure 3-10. アマビコヤスデ属ヤスデにおける *T. claudiae* および Thelastomatidae spp. が感染することによる宿主体長への影響

青の棒と左の縦軸は平均体長を表す。エラーバーは体長の標準偏差を表す。4つのアマビコヤスデ属ヤスデ宿主全てを組み合わせ、*T. claudiae* のみが感染する共場合 (With *T. claudiae*)、Thelastomatidae spp. のみが感染する共場合 (With Thelastomatidae)、*T. claudiae* と Thelastomatidae spp. が共感染している場合 (With both) における宿主ヤスデの体長を示した。 $p < 0.05$, ボンフェローニ補正をかけた t 検定。

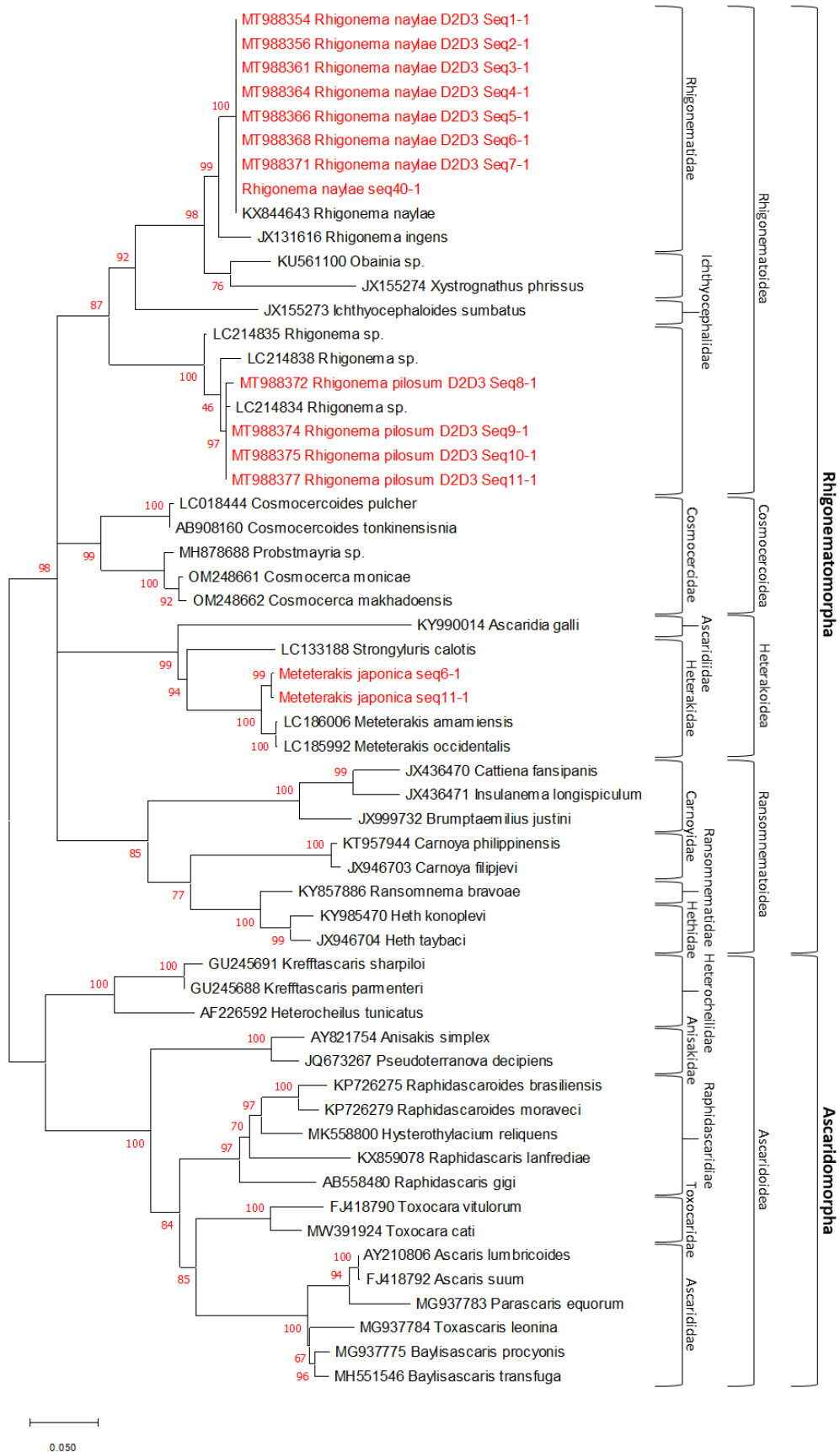


Figure 3-11. Rhigonematomorpha 下目系統樹

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域(678 bp)より最尤法(maximum likelihood method)を用いて構築した。1000 反復のブートストラップによって決定された信頼度(%)を分岐点の横に示した。本研究で新たに取得したシーケンス(詳細については以下に記載)を赤で示した。

Seq1_春日井市ミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp1 から分離

Seq2_春日井市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

Seq3_関市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp2 から分離

Seq4_岐阜市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp2 から分離

Seq5_岐阜市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

Seq6_山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp3 から分離

Seq7_山県市ヒダババヤスデ *P. longa* から分離

Seq8_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離

Seq9_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離

Seq10_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq11_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq40_藤枝市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

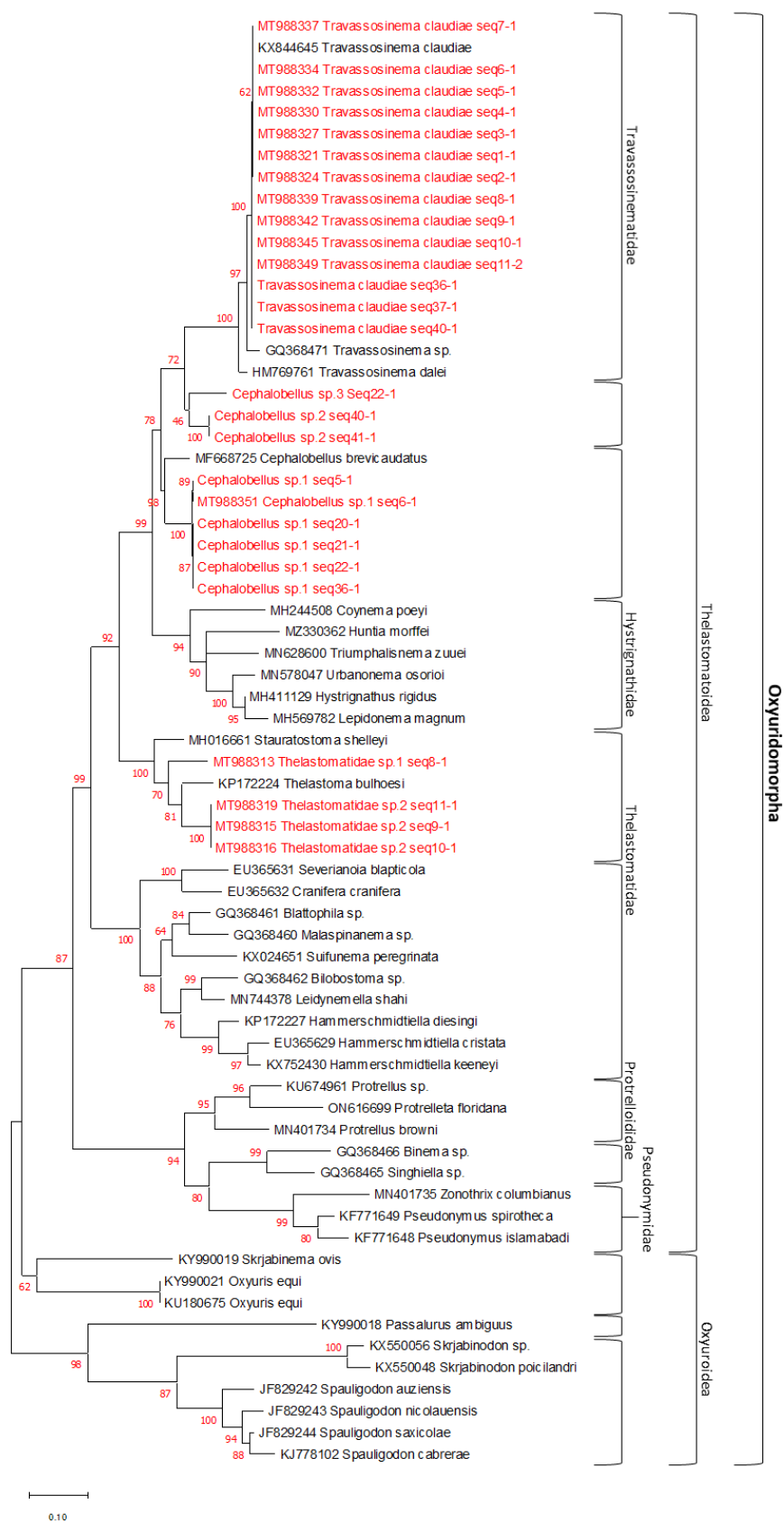


Figure 3-12. Thelastomatoidea 上科系統樹

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域(621 bp)より最尤法(maximum likelihood method)を用いて構築した。1000 反復のブートストラップによって決定された信頼度(%)を分岐点の横に示した。本研究で新たに取得したシーケンス(詳細については以下に記載)を赤で示した。

Seq1_春日井市ミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp. 1 から分離

Seq2_春日井市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

Seq3_関市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離

Seq4_岐阜市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離

Seq5_岐阜市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

Seq6_山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

Seq7_山県市ヒダババヤスデ *P. longa* から分離

Seq8_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離

Seq9_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離

Seq10_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq11_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq20_静岡市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

Seq21_八王子市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

Seq22_八王子市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

Seq36_不破郡コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離

Seq37_徳島市ミドリババヤスデ種複合体種 4 *P. tonominea* SPCX sp. 4 から分離

Seq40_藤枝市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

Seq41_藤枝市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

第 4 章 南西諸島に生息するババヤスデ科ヤスデに寄生する Rhigonematoidea 上科および Thelastomatoidea 上科線虫についての調査

4-1. 背景

本州と九州の調査を通じて、そこに生息するババヤスデ科ヤスデとその寄生性線虫種の組み合わせの傾向が明らかとなった。すなわち、本州から九州にかけてのババヤスデ科ヤスデ腸内には進化的に起源の異なる 2 つの寄生性線虫が競合することなく共存していることがわかった。また、本州に生息するババヤスデ属ヤスデには共通して *R. naylae* が寄生するが、九州に生息するアマビコヤスデ属ヤスデにはそれと異なる科の Rhigonematoidea 上科線虫が感染しており、アマビコヤスデ属ヤスデと共に南から日本に侵入したグループだと考えた。

南西諸島にはアマビコヤスデ属ヤスデとヤエタケヤスデ属のポコックヤエタケヤスデ *Yaetakaria neptuna* (Pocock, 1895) が生息しており、屋久島にはキイロアマビコヤスデ *R. puella* (Tanabe, 1988) と *R. jamila* (Tanabe, 1990) が、種子島にはタネガシマアマビコヤスデ *R. maculata* (Korsos et al., 2011) が、奄美大島には *R. bifida* (Takakuwa, 1942) とアマミアマビコヤスデ *R. scutata* (Takakuwa, 1942) が、沖縄本島にはホルストアマビコヤスデ *R. holstii* (Pocock, 1895)、オキナワアマビコヤスデ *R. pugionifera* (Verhoeff, 1936) およびクロオキナワアマビコヤスデ *R. falcifera* (Verhoeff, 1936) が (オキナワアマビコヤスデとクロオキナワアマビコヤスデは同論文で記載され、そこで同種のシノニムである可能性が指摘されており、同種とする場合オキナワアマビコヤスデ *R. pugionifera* が優先される) が、久米島には *R. spiralipes* (Takakuwa, 1942) が、石垣島と西表島にはヤットコアマビコヤスデ *R. chelifera* (Takakuwa, 1941) が、与那国島にはヨナグニアマビコヤスデ *R. mundyi* (Korsos, Nakamura & Tanabe, 2011) が生息し、屋久島、奄美大島、沖縄本島にのみ複数種のアマビコヤスデ属ヤスデが生息する (Korsos, et al., 2011; Nakamura & Korsós, 2010)。Rhigonematoidea 上科線虫がアマビコヤスデ属ヤスデと共に日本に侵入したのであれば、これらの宿主ヤスデと共に種分化しているはずであり、ヤスデ種ごとに異なる線虫種が寄生するはずである。また、

河北師範大学生命科学学院の李亮教授との共同研究により、Rhigonematomorpha 下目の系統解析にはシトクロム C オキシダーゼサブユニット I (以下 COXI と略称する) 遺伝子が有効であることが示唆された (Zhang et al. 2022)。そこで、この仮説を検討し、南西諸島でも Rhigonematoidea 上科と Thelastomatoidea 上科の線虫がヤスデ腸内に競合することなく共存しているか調べるため、南西諸島に生息するアマビコヤスデ属ヤスデを調査した。

4-2. 材料と方法

4-2-1. ババヤスデ科ヤスデの採集

第 3 章 3-2-1 同様に、沖縄本島 5 地点 (名護市名護中央公園、国頭郡与那安田横断道路、ネクマチチ岳、八重岳、山里) と石垣島 1 地点 (石垣市玉取崎展望台付近) の南西諸島 6 地点にてババヤスデ科ヤスデを採集し、解剖するまで冷蔵保管した (Figure 4-1)。

4-2-2. ヤスデの解剖及び寄生性線虫の分離

第 3 章 3-2-2 と同様の方法にて、採集したヤスデの解剖および個体群構成の解析、形態学的特徴の観察と撮影を行った。与那安田横断道路のホルストアマビコヤスデとクロオキナワアマビコヤスデからは、4 種もの Thelastomatoidea 上科線虫が分離されたため、これらの線虫それぞれの共感染率を計算した。Rhigonematoidea 上科線虫は、全ての Thelastomatoidea 上科線虫と共感染していた。沖縄県のホルストアマビコヤスデとクロオキナワアマビコヤスデには、形態的に区別のつかない 3 種の Rhigonematoidea 上科線虫が少なくとも 2 種同時にヤスデ宿主に感染していることが DNA 解析により分かったため、ポコックヤエタケヤスデ *Yaetakaria neptuna* で分離された Rhigonematoidea 上科線虫を雄の生殖針と雌の膣の形態から 3 種に分けて計数した。DNA 解析により、このうち 2 種が同種であると分かったため、これら 2 種の個体群構成を比較した。

4-2-3. ヤエタケヤスデに寄生する *Rhigonematoidea* spp. と *Thelastomatidae* sp. が共感染することによる影響

山里のポコックヤエタケヤスデには、*Thelastomatoidea* 上科線虫として *Thelastomatidae* 科線虫 1 種のみ寄生していたため、これらが *Rhigonematoidea* 上科線虫と共感染することによる個体群構成への影響を調べた。解剖した宿主を(1)宿主全体、(2)*Rhigonematoidea* 上科線虫のみが感染していた宿主、(3)*Thelastomatidae* 科線虫のみが感染していた宿主、(4)*Rhigonematoidea* 上科線虫と *Thelastomatidae* 科線虫が共感染していた宿主、以上 3 つの感染パターンに分類した。これまでに調査したヤスデ同様、(3)の感染パターンは見られなかったため、(2)と(4)における *Rhigonematoidea* 上科線虫の感染頭数と感染率、および宿主ヤスデの体長を第 2 章 2-2-4 と同様に比較した。

4-2-4. ヤスデ寄生性線虫の分子系統解析

第 3 章 3-2-4 と同様にヤスデ寄生性線虫の 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンスを決定し、これを NCBI (National Center for Biotechnology Information) のデータベースと照合して DNA バーコーディングを行うと共に、分子系統解析を行った。これらの線虫は第 2 章 2-2-4 の種同定方法では不明瞭な差異が確認できたため、*Rhigonematomorpha* 下目の系統解析に有効だと思われる COXI 遺伝子のシーケンスを決定し、Kimura (K80) ts/tv 2.0 モデルを用いた ASAP (Puillandre et al., 2021) により種分割を行った (Zhang et al., 2022)。なお、COXI 遺伝子はリボソーム RNA 遺伝子と異なり種間のギャップ配列がほとんどないため、trimAl による処理を省いた。その結果、COXI 遺伝子は種内多型を反映していると分かったため、これまでの全ての線虫と宿主ヤスデからも COXI 遺伝子のシーケンスを決定し、第 3 章 3-2-4 と同様に分子系統解析を行って線虫と宿主ヤスデの系統関係を照らし合わせた。

4-3. 結果

4-3-1. 沖縄本島のババヤスデ科ヤスデに感染する複数種の Rhigonematoidea 上科線虫と Thelastomatoidea 上科線虫

沖縄本島の5地点でクロオキナワアマビコヤスデ(国頭村)、ホルストアマビコヤスデ(国頭村、大宜味村、名護市、本部町八重岳)、ポコックヤエタケヤスデ(本部町山里)を、石垣島の1地点でヤットコアマビコヤスデ(伊原間)を採集した(Table 4-1, Figure 4-1)。沖縄本島のアマビコヤスデ属ヤスデは、九州のアマビコヤスデ属ヤスデに寄生する Rhigonematoidea 上科線虫と近縁な3種の Rhigonematoidea 上科線虫が寄生し、うち2種が同時にヤスデ宿主に寄生していた(Table 4-2, Table 4-3, Figure 4-2, Figure 4-5, Figure 4-10)。Rhigonematoidea sp. 2 は、国頭村のクロオキナワアマビコヤスデ、大宜味村、名護市および本部町八重岳のホルストアマビコヤスデ、本部町山里のポコックヤエタケヤスデに地理的及び宿主複数種に広く寄生していることを確認した(Table 4-3)。一方で、Rhigonematoidea sp. 3 は本部町八重岳のホルストアマビコヤスデと本部町山里のポコックヤエタケヤスデに寄生していること、Rhigonematoidea sp. 4 は本部町以外の宿主各種に寄生していたことから、Rhigonematoidea sp. 3 と Rhigonematoidea sp. 4 は本部町方面と名護市の境界付近を境に分布が分断していると考えられる(Table 4-3)。

Thelastomatoidea 上科線虫は、つぎのように5つのグループからなるおそらく8種の寄生性線虫が確認できた(Table 4-2, Table 4-3, Figure 4-11)。すなわち、(1)本州・四国・九州で共通する *T. claudiae* とは異なる種の *Travassosinema* 属線虫、(2)九州のカマトゲアマビコヤスデと同じ Thelastomatidae sp. 1、(3) *Cephalobellus* 属線虫で他の種と比べて小さい *Cephalobellus* sp. 4、(4) *Travassosinema* 属とごく近縁だが傘状構造を持たず、その原型のような鉤爪状の構造を持つ *Travassosinematidae* 科線虫、(5)形態的に *Cephalobellus* sp. 4 と類似するも系統的にはガムシ寄生性線虫 *Pseudonymidae* 科に近く、独自の科に属する可能性のある未知の Thelastomatoidea 上科線虫、これら5つが寄生しており、最大4種が同じ個体群に寄生していた(Table 4-3, Figure 4-6)。一方、ポコックヤエタケヤスデには Thelastomatidae sp. 1 のみが寄生していた(Table 4-2, Table 4-3)。このうち、全てのアマビコヤスデ属ヤスデ宿主に共通して寄生していた

Travassosinema sp. と *Thelastomatidae* sp. 1 は、ASAP 解析の結果から複数種に分かれることが分かった。*Thelastomatidae* sp. 1 は九州のものと別種であるほか、本部町および名護市のものとそれ以外(やんばる地方)とで別種だった (Figure 4-4) (以降、*Thelastomatidae* spp. 1 と総称する)。一方、*Travassosinema* sp. は本部町、名護市、それ以外(やんばる地方)のものがそれぞれで別種であり、3 種に分かれた (Figure 4-3) (以降、*Travassosinema* spp. 1 と総称する)。このことから、沖縄本島に生息するアマビコヤスデ属ヤスデに共通して寄生する *Rhigonematoidea* spp.、*Travassosinema* spp. 1、*Thelastomatidae* spp. 1 はそれぞれ異なる地理的多型を持ち、種分化のパターンが異なることが分かった。

これらの寄生性線虫の感染率は本州および九州のババヤスデ科ヤスデ同様に *Rhigonematoidea* 上科線虫の方が *Thelastomatoidea* 上科線虫より高いことで共通しており、これらの個体群構成は、*Rhigonematoidea* spp. 幼虫の感染頭数を除き宿主ヤスデ種間で有意差は見られなかった (Figure 4-7)。*Thelastomatoidea* 上科線虫同士の共感染に注目すると、*Thelastomatidae* spp. 1 と *Travassosinematidae* sp. の組み合わせのみ明確に共感染率が低かった (Table 4-4)。このことから、この 2 種の組み合わせでは競合関係が生じている可能性が考えられる。

また、一部の宿主ヤスデからは外来種のヤンバルトサカヤスデ *Chamberlinius hualienensis* (Wang, 1956) に共通して寄生する *Rhigonema* sp. 2 が分離された(ヤンバルトサカヤスデのデータについては示していない)。*Rhigonema* sp. 2 は *Rhigonematoidea* spp. と形態的に酷似しているため区別はできず、個体群構成や在来の寄生性線虫への影響は不明であるが、同所的に生息する外来種ヤンバルトサカヤスデからのスピルオーバー(寄生虫や細菌・ウイルスなどが本来の宿主から本来宿主としない宿主へと感染すること)が確認できた (Data not shown)。しかし、同じくヤンバルトサカヤスデに共通して感染する *Travassosinema viatorum* (Morffe et al., 2023) および *Thelastomatidae* 科線虫の一種のスピルオーバーは確認できなかった (Data not shown)。*T. viatorum* は小さな傘状構造によりほかの *Travassosinema* 属線虫と容易に区別可能であることから、間違いなくスピルオーバーしていないといえるため、ヤスデ

同士では Thelastomatoidea 上科線虫より Rhigonematoidea 上科線虫のほうがスピロオーバーしやすい可能性が示唆された。

石垣島のヤットコアマビコヤスデからは *Rhigonema* sp. 1 と Thelastomatidae spp. 1 のみが分離された。Thelastomatidae spp. 1 は九州や沖縄本島とは異なる種であり、島ごとに異なる種が生息する可能性が示唆された。今回の調査では、2 頭の宿主ヤスデから Rhigonematoidea sp. と *Travassosinema* 属線虫が分離されなかったものの、NCBI のデータベースには石垣島のアマビコヤスデ属ヤスデから分離された Rhigonematoidea sp. (登録者による同定は *Rhigonema* sp.) および *Travassosinema* sp. の 28S リボソーム RNA 遺伝子 (LC214838.1 および LC214839.1) と 18S リボソーム RNA 遺伝子 (LC214831.1 および LC214832.1) が登録されている。そのため、他のアマビコヤスデ属ヤスデの調査結果も踏まえると *Rhigonema* sp. 1 は本来の寄生性線虫ではない可能性が考えられる。南西諸島に生息する *Rhigonema* 属線虫は、西表島のヤエヤママルヤスデ *Spirobolus akamma* (Kato et al., 2023)、イシガキミイツヤスデ *C. uenoi* (Murakami, 1975)、石垣島のイシガキミイツヤスデ、外来種のヤンバルトサカヤスデから確認できている (Data not shown)。*Rhigonema* sp. 1 は確認できていないが、石垣島のサダエミナミヤスデ *Trigoniulus tertius* (Takakuwa, 1940) からシーケンス解析未実施の Rhigonematoidea 上科線虫が分離できているため (Data not shown)、これか、あるいは石垣島のヤエヤママルヤスデに寄生する種の可能性が考えられる。

4-3-2. ポコックヤエタケヤスデにおける Thelastomatidae sp. 1 と Rhigonematoidea spp. の共感染による影響

ポコックヤエタケヤスデ宿主を (1) 宿主全体 (N=27)、(2) Rhigonematoidea 上科線虫のみが感染していた宿主 (N=7)、(3) Rhigonematoidea 上科線虫と Thelastomatidae 科線虫が共感染していた宿主 (N=20) の 3 つの感染パターンに分けて個体群構成を比較したところ、(2) の感染パターンのほうが (1) の感染パターンよりも Rhigonematoidea sp. 2 の雄成虫を除く全ての Rhigonematoidea spp. の感染頭数が優位に多く、さらに、宿主体長が優位に大きいことが分かった (Figure 4-9)。このことから、*Travassosinema* 属線虫が存在しない条件下においても Thelastomatidae 科線虫との共

感染は Rhigonematoidea 上科線虫の個体群構成に悪影響を与えることはなく、体長が大きい宿主ヤスデほど共感染している傾向にあると示唆された。

4-3-3. ババヤスデ科ヤスデ宿主とその寄生性線虫の共進化

COXI 遺伝子を用いて、日本のババヤスデ科ヤスデとその寄生性線虫の系統関係を構築して比較したところ、これまでに調査したババヤスデ属ヤスデとその寄生性線虫 *R. naylae* および *T. claudiae* の系統関係に特に相関がないことが示された。これらの寄生性線虫の種内の遺伝的距離（集団間における遺伝的な分化の度合い）は、対応する宿主ヤスデ間の遺伝的距離とは比較にならないほど小さく、全て同種の範囲内であった（Figure 4-2, Figure 4-3, Figure 4-12A）。そのため、これらの寄生性線虫は宿主ヤスデと共進化していないことが示唆された。*Cephalobellus* spp. では、*Cephalobellus* sp. 1 が 4 種に分かれたものの系統関係は不明瞭であり、宿主ヤスデも属が統一されていないため、系統関係の比較ができるほど充実した系統関係を構築できなかった（Figure 4-3, Figure 4-12A）。

一方、アマビコヤスデ属ヤスデとその寄生性線虫 Rhigonematoidea spp. および Thelastomatidae spp. 1 の系統関係には相関が示唆された。Rhigonematoidea sp. 1 種内の系統関係は九州に生息するアマビコヤスデ属ヤスデの系統関係と高い信頼度で完全に一致しており、沖縄本島の Thelastomatidae spp. 1 の系統関係はホルストアマビコヤスデ種内の系統関係と高い信頼度で完全に一致していた（Figure 4-12B）。このことから、これらのヤスデ宿主と寄生性線虫が共進化していることが示唆された。なお、九州のアマビコヤスデ属ヤスデには一部別種アマビコヤスデ属ヤスデの遺伝子を持つものや、別の採取地と同種の Thelastomatidae 科線虫が分離されたものが存在するが、おそらく人為的移入による影響だと思われる。COXI 遺伝子は母系遺伝するミトコンドリアの遺伝子であるため、種間交雑によりこのような状況になったと思われる。

宿主であるアマビコヤスデ属ヤスデと共進化が示唆された Rhigonematoidea spp. と Thelastomatidae spp.1 は、宿主ヤスデとの共進化が否定された *R. naylae* および *T. claudiae* と比べてグループ内の遺伝的距離が極めて大きかった（Figure 4-12）。遺伝的距離は比較に用いたシーケンス同士の配列の差異の程度を示すため、*R. naylae* と

T. claudiae は遺伝的にほぼ同一の集団が本州や九州の各地に拡散していることが分かる。従って、これらの寄生性線虫は宿主間移動を頻繁に繰り返すことで、ヤスデ宿主と共進化している寄生性線虫より遥かに速い速度で拡散している可能性が考えられる。

4-4. 考察

4-4-1. Rhigonematoidea 上科線虫と Thelastomatoidea 上科線虫の共存関係

沖縄本島のババヤスデ科ヤスデは、本州および九州のババヤスデ科ヤスデと同様に Rhigonematoidea 上科線虫が Thelastomatoidea 上科線虫より高い感染率であり、これらの寄生性線虫が競合することなくヤスデ腸内に共存することが分かった。本州や九州と比べるとそれぞれ種数が多く、2 つのグループから複数種が寄生する傾向が見られたものの、全体に共通するものは九州のアマビコヤスデ属ヤスデと同様に Rhigonematoidea spp.、Travassosinema 属線虫、Thelastomatidae 科線虫であった。日本国内のババヤスデ科ヤスデ宿主に寄生する Rhigonematoidea 上科と Thelastomatoidea 上科の線虫の間に見られるこの関係性が、本州、九州、沖縄本島で普遍的に確認できたことから、ババヤスデ科ヤスデ全体とそこに寄生する Rhigonematoidea 上科および Thelastomatoidea 上科線虫全体に共通する関係性であると考えた。

第2章 2-4-1 で考察したように、Rhigonematoidea 上科線虫はヤスデ宿主の幽門に寄生して腸内容物を食べる生態を持ち、Thelastomatoidea 上科線虫は後腸内腔に寄生して腸内細菌を食べる生態を持つと考えられることから、それぞれのグループの宿主腸内での役割がお互いに良い影響をもたらしていると考えた。腸内容物を食べる Rhigonematoidea 上科線虫は、ヤスデ宿主の消化機能にさらなる消化工程を加えることで特定の栄養素を吸収しやすくする可能性が考えられる。一方、腸内細菌を食べる Thelastomatoidea 上科線虫は腸内細菌叢を整える可能性が考えられる (Vicente et al., 2016)。このように宿主ヤスデ、Rhigonematoidea 上科線虫、Thelastomatoidea 上科線虫の三者がともに共存している関係であると考えた。

Rhigonematoidea 上科と Thelastomatoidea 上科のふたつの線虫グループが、お互いに競合することなく共存する関係性がババヤスデ科ヤスデ宿主に共通するのであれば、これらふたつの線虫グループの祖先がそれぞれヤスデ宿主と現在同様の共生関係に至るまでの過程がどのようなものであったかも非常に興味深い。ふたつの線虫グループの祖先が同時期にヤスデ宿主に寄生性を獲得したとも考えられるが、おそらくどちらかの線虫グループの祖先が先にヤスデ寄生性を獲得し、後から誕生したもうひとつの線虫グループの祖先が、先に寄生性を獲得した線虫の存在を前提としてヤスデ腸内に適応したといった、時間差があったのではないかと考えられる。

4-4-2. 日本のババヤスデ科ヤスデとその寄生性線虫の共進化

COXI 遺伝子を用いた系統解析では Rhigonematoidea sp. 1 と九州のアマビコヤスデ属ヤスデ、Thelastomatidae spp. 1 とホルストアマビコヤスデの間で系統関係の分岐パターンが一致し、共進化していることが示唆された。しかし、ヤスデ宿主の種間関係は極めて不明瞭であり、寄生性線虫の系統樹と比較して高い信頼度で構築された系統関係の範囲のほとんどをカバーできていなかった。そこで、過去に報告されたババヤスデ科ヤスデの系統樹 (Means et al., 2021) から、今回調査したアマビコヤスデ属ヤスデの系統関係を抜粋し、Figure 4-12B と組み合わせることで Rhigonematoidea spp. と Thelastomatidae 科線虫の系統関係と比較した (Figure 4-13)。その結果、Rhigonematoidea spp. と Thelastomatidae spp. 1 の系統関係の分岐パターンは、アマビコヤスデ属ヤスデ宿主の系統関係と完全に一致することが判明した。

Thelastomatidae spp. 1 は、沖縄本島におけるホルストアマビコヤスデと系統関係が一致しており、クロオキナワアマビコヤスデやポコックヤエタケヤスデに対応する種が確認できていないものの、九州と石垣島の種との系統関係がアマビコヤスデ属ヤスデの系統関係と一致した。Rhigonematoidea spp. は、九州に生息するアマビコヤスデ属ヤスデ宿主の系統関係と種内多型が一致する 1 種に加えて、沖縄本島に生息する 3 種のババヤスデ科ヤスデ宿主 (クロオキナワアマビコヤスデとオキナワアマビコヤスデを同種とした場合) に対して 3 つの種が宿主との対応関係なしに寄生しているが、その種間の系統関係は宿主間の系統関係と完全に一致した。全ての採取地で確認できた

Rhigonematoidea sp. 2 はポコックヤエタケヤスデと系統的に対応し、本部町と名護市の間で種が分断する Rhigonematoidea sp. 3 および sp. 4 はホルストアマビコヤスデおよびクロオキナワアマビコヤスデと系統的に対応した。このことから、アマビコヤスデ属ヤスデ宿主と Rhigonematoidea spp. は共進化しており、それぞれの共通祖先が寄生・共生関係にあったことが示唆された。

沖縄本島に生息する 3 種の Rhigonematoidea spp. は複数種のヤスデ宿主に感染しており、Rhigonematoidea sp. 2 はポコックヤエタケヤスデを本来の宿主とする寄生性線虫であると考えられるにもかかわらず、今回調査したポコックヤエタケヤスデでは Rhigonematoidea sp. 3 と比べて感染頭数が優位に少なく、雄成虫の感染率は大幅かつ優位に低かった (Figure 4-8)。このことから、Rhigonematoidea 上科線虫は宿主との相性による宿主特異性が全く存在せず、宿主ヤスデに別種 Rhigonematoidea 上科線虫が容易にスピルオーバーする可能性が示唆された。外来種ヤンバルトサカヤスデから沖縄本島のアマビコヤスデ属ヤスデへの Rhigonematoidea 上科線虫のスピルオーバーが確認できていることから、それが在来の寄生性線虫に及ぼす影響の調査が必要である。

4-5. 表 (Table 4-1 ~ Table 4-4)

Table 4-1. 各採取地で採集したヤスデ

沖縄本島国頭村与那安田横断道路	クロオキナワアマビコヤスデ <i>R. falcifera</i>
	ホルストアマビコヤスデ <i>R. holstii</i>
沖縄本島大宜味村ネクマチチ岳	ホルストアマビコヤスデ <i>R. holstii</i>
沖縄本島名護市名護中央公園	ホルストアマビコヤスデ <i>R. holstii</i>
沖縄本島本部町八重岳	ホルストアマビコヤスデ <i>R. holstii</i>
沖縄本島本部町山里	ポコックヤエタケヤスデ <i>Y. neptuna</i>
石垣島伊原間玉取崎展望台付近	ヤットコアマビコヤスデ <i>R. chelifera</i>

沖縄本島および石垣島で採集したババヤスデ科ヤスデとその採取地を示した。

Table 4-2. ヤスデ宿主から分離された寄生性線虫の個体群構成

宿主		寄生性線虫	感染頭数の中央値と 95%信頼区画,及び感染率				
			雄成虫	雌成虫	幼虫	総感染率	
国頭村	<i>R. falcifera</i> (N=18)	Rhigonematoidea	13.9 (7.4-25.3)	25.9 (17.4-38.3)	61.6 (40.9-86.1)	94.4% (N=17)	
			83.3% (N=15)	88.9% (N=16)	88.9% (N=16)		
		<i>Travassosinema</i>	3.0 (-)	5.5 (3.8-7.5)	1.0 (-)	66.7% (N=12)	
			5.6% (N=1)	66.7% (N=12)	16.7% (N=3)		
		ThelastomatidaeA	-	4.8 (3.0-7.8)	4.0 (-)	50% (N=9)	
			0% (N=0)	50.0% (N=9)	5.6% (N=1)		
		ThelastomatidaeB	-	5.0 (1.5-10.7)	2.0 (-)	33.3% (N=6)	
			0% (N=0)	33.3% (N=6)	11.1% (N=2)		
		ThelastomatidaeC	-	7.4 (3.0-12.0)	-	27.8% (N=5)	
			0% (N=0)	27.8% (N=5)	0% (N=0)		
		<i>R. holstii</i> (N=20)	Rhigonematoidea	13.3 (8.4-22.0)	19.4 (2.5-31.5)	20.4 (3.6-29.7)	100% (N=20)
				95.0% (N=19)	95.0% (N=19)	95.0% (N=19)	
	<i>Travassosinema</i>		-	5.9 (3.4-9.7)	1.0 (-)	70.0% (N=14)	
			0% (N=0)	70.0% (N=14)	5.0% (N=1)		
	ThelastomatidaeA		-	2.1 (1.5-2.8)	-	60.0% (N=12)	
			0% (N=0)	60.0% (N=12)	0% (N=0)		
	ThelastomatidaeB		-	2.6 (1.73-3.6)	-	55.0% (N=11)	
			0% (N=0)	55.0% (N=11)	0% (N=0)		
	ThelastomatidaeC		-	3.0 (-)	-	10.0% (N=2)	
			0% (N=0)	10.0% (N=2)	0% (N=0)		
大宜味村	<i>R. holstii</i> (N=3)		Rhigonematoidea	8.0 (-)	19.0 (-)	24.0 (15.0-32.7)	100% (N=3)
				100% (N=3)	100% (N=3)	100% (N=3)	
		<i>Travassosinema</i>	-	1.0 (-)	-	33.3% (N=1)	
			0% (N=0)	33.3% (N=1)	0% (N=0)		
		ThelastomatidaeA	-	4.0 (-)	-	66.7% (N=2)	
			0% (N=0)	66.7% (N=2)	0% (N=0)		
		ThelastomatidaeB	-	2.5 (-)	-	66.7% (N=2)	
			0% (N=0)	66.7% (N=2)	0% (N=0)		

名護市	<i>R. holstii</i> (N=4)	Rhigonematoidea	11.3 (-)	19.0 (-)	17.0 (15.0-32.7)	100% (N=4)
			100% (N=4)	100% (N=4)	100% (N=4)	
		<i>Travassosinema</i>	-	5.5 (-)	-	50% (N=2)
			0% (N=0)	50.0% (N=2)	0% (N=0)	
		ThelastomatidaeA	-	2.3 (1.3-3.3)	-	100% (N=4)
			0% (N=0)	100% (N=4)	0% (N=0)	
		ThelastomatidaeB	-	2.0 (-)	-	50.0% (N=2)
			0% (N=0)	50.0% (N=2)	0% (N=0)	
本部町八重岳	<i>R. holstii</i> (N=2)	Rhigonematoidea	15.0 (-)	19.5 (-)	16.5 (-)	100% (N=2)
			100% (N=2)	100% (N=2)	100% (N=2)	
		<i>Travassosinema</i>	-	4.5 (-)	-	100% (N=2)
			0% (N=0)	100% (N=2)	0% (N=0)	
		ThelastomatidaeA	-	9.5 (-)	-	100% (N=2)
			0% (N=0)	100% (N=2)	0% (N=0)	
本部町山里	<i>Y. neptuna</i> (N=27)	RhigonematoideaA	8.4 (6.4-10.9)	9.0 (6.8-12.0)	8.1 (5.6-13.2) 81.5% (N=22)	100%※ (N=27)
			100% (N=27)	92.6% (N=25)		92.6%※ (N=25)
		RhigonematoideaB	3.9 (2.6-5.5)	5.13 (4.1-6.3)		
			59.3% (N=16)	88.9% (N=24)		
		ThelastomatidaeA	-	2.0 (1.6-2.5)	-	74.1% (N=20)
			0% (N=0)	74.1% (N=20)	0% (N=0)	
伊原間	<i>R. cheilifera</i> (N=2)	Rhigonematoidea	24.5 (-)	18.5 (-)	14.5 (-)	100% (N=2)
			100% (N=2)	100% (N=2)	100% (N=2)	
		ThelastomatidaeA	-	1 (-)	-	50.0% (N=1)
			0% (N=0)	50.0% (N=1)	0% (N=0)	

各ヤスデ宿主に寄生する寄生性線虫の雄成虫、雌成虫、幼虫それぞれの平均感染頭数(上)と感染率(下)を示した。総感染率はそれぞれの線虫種が発育ステージや雌雄を問わず一頭でも感染している宿主の割合を示した。括弧内は、感染率では感染していた宿主の数を示し、平均感染頭数ではその 95%信頼区間を示す。- は感染が確認できなかったことを示し、95%信頼区間では感染頭数にばらつきが全くないため区間が存在しないこと、あるいはサンプル数が不足しているため 95%の信頼度で区間を算出できなかったことを示している。

ポコックヤエタケヤスデから分離された Rhigonematoidea spp. は形態から 3 種に分けたが、そのうち 2 種が分子同定の結果から同種だと分かったため一つにまとめた。

※幼虫時点では判別不能であるため、総感染率は成虫のみで算出した。

Table 4-3. 各採取地のヤスデから分離された寄生性線虫の種

採取地	宿主ヤスデ種	寄生性線虫種
国頭村	クロオキナワアマビコヤスデ <i>Riukiaria falcifera</i>	Rhigonematoidea sp. 2
		Rhigonematoidea sp. 4
		<i>Rhigonema</i> sp. 2
		<i>Travassosinema</i> sp. A
		Travassosinematidae sp.
		Thelastomatidae sp. 1C
		<i>Cephalobellus</i> sp. 4
	ホルストアマビコヤスデ <i>Riukiaria holstii</i>	Rhigonematoidea sp. 4
		<i>Rhigonema</i> sp. 2
		<i>Travassosinema</i> sp. A
		Travassosinematidae sp.
		Thelastomatidae sp. 1C
		Thelastomatoidea sp.
大宜味村	ホルストアマビコヤスデ <i>Riukiaria holstii</i>	Rhigonematoidea sp. 2
		Rhigonematoidea sp. 4
		<i>Travassosinema</i> sp. C
		Thelastomatidae sp. 1C
		Thelastomatoidea sp.
名護市	ホルストアマビコヤスデ <i>Riukiaria holstii</i>	Rhigonematoidea sp. 2
		Rhigonematoidea sp. 4
		<i>Travassosinema</i> sp. B
		Thelastomatidae sp. 1B
		Thelastomatoidea sp.
本部町八重岳	ホルストアマビコヤスデ <i>Riukiaria holstii</i>	Rhigonematoidea sp. 2
		Rhigonematoidea sp. 3
		<i>Travassosinema</i> sp. C
		Thelastomatidae sp. 1B
本部町山里	ポコックヤエタケヤスデ <i>Yaetakaria neptuna</i>	Rhigonematoidea sp. 2
		Rhigonematoidea sp. 3
		Thelastomatidae sp. 1B
伊原間	ヤットコアマビコヤスデ <i>Riukiaria chelifera</i>	<i>Rhigonema</i> sp. 1
		Thelastomatidae sp. 1D

これらの寄生性線虫は、形態学的観察、28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域を

用いた NCBI のデータベースとの照合および系統解析の結果 (Figure 4-10, Figure 4-11)、COXI 遺伝子を用いた ASAP 分析の結果 (Figure 4-2 ~ Figure 4-4) に基づいて同定した。

Table 4-4A. クロオキナワアマビコヤスデに感染する Thelastomatoidea 上科線虫同士の共感染率

線虫 1	<i>Travassosinema</i> sp.			Thelastomatidae sp. 1		<i>Cephalobellus</i> sp. 4
感染率(%)	66.7			50.0		33.3
線虫 2	Thelastomatidae sp. 1	<i>Cephalobellus</i> sp. 4	Travassosinematidae sp.	<i>Cephalobellus</i> sp. 4	Travassosinematidae sp.	Travassosinematidae sp.
感染率(%)	50.0	33.3	27.8	33.3	27.8	27.8
共感染 宿主数	8	5	4	4	1	2
共感染率(%)	44.4	27.8	22.2	22.2	5.6	11.1
宿主共有率(%)	88.9	83.3	80.0	66.7	20.0	40.0

計 18 頭のクロオキナワアマビコヤスデに寄生していた Thelastomatoidea 上科線虫 4 種の共感染率を示した。宿主共有率は、2 種の線虫のうち感染率が低い線虫が感染していた宿主の数に対して、2 種の線虫が共感染していた宿主の割合を示す。宿主共有率に注目すると、Travassosinematidae sp. は Thelastomatidae sp. 1 とほとんど共感染していないことが分かる。

Table 4-4B. ホルストアマビコヤスデに感染する *Thelastomatoidea* 上科線虫同士の共感染率

線虫 1	<i>Travassosinema</i> sp. 3			<i>Thelastomatidae</i> sp. 1		<i>Thelastomatoidea</i> sp.
感染率(%)	70.0			60.0		55.0
線虫 2	<i>Thelastomatidae</i> sp. 1	<i>Thelastomatoidea</i> sp.	<i>Travassosinematidae</i> sp.	<i>Thelastomatoidea</i> sp.	<i>Travassosinematidae</i> sp.	<i>Travassosinematidae</i> sp.
感染率(%)	60.0	55.0	10.0	55.0	10.0	10.0
共感染 宿主数	10	8	1	6	0	1
共感染率(%)	50.0	40.0	5.0	30.0	0	5.0
宿主共有率(%)	83.3	72.7	50.0	54.5	0	50.0

計 20 頭のホルストアマビコヤスデに寄生していた *Thelastomatoidea* 上科線虫 4 種の共感染率を示した。宿主共有率は、2 種の線虫のうち感染率が低い線虫が感染していた宿主の数に対して、2 種の線虫が共感染していた宿主の割合を示す。宿主共有率に注目すると、*Travassosinematidae* sp. は *Thelastomatidae* sp. 1 とは共感染していなかった。

4-6. 図 (Figure 4-1 ~ Figure 4-13)

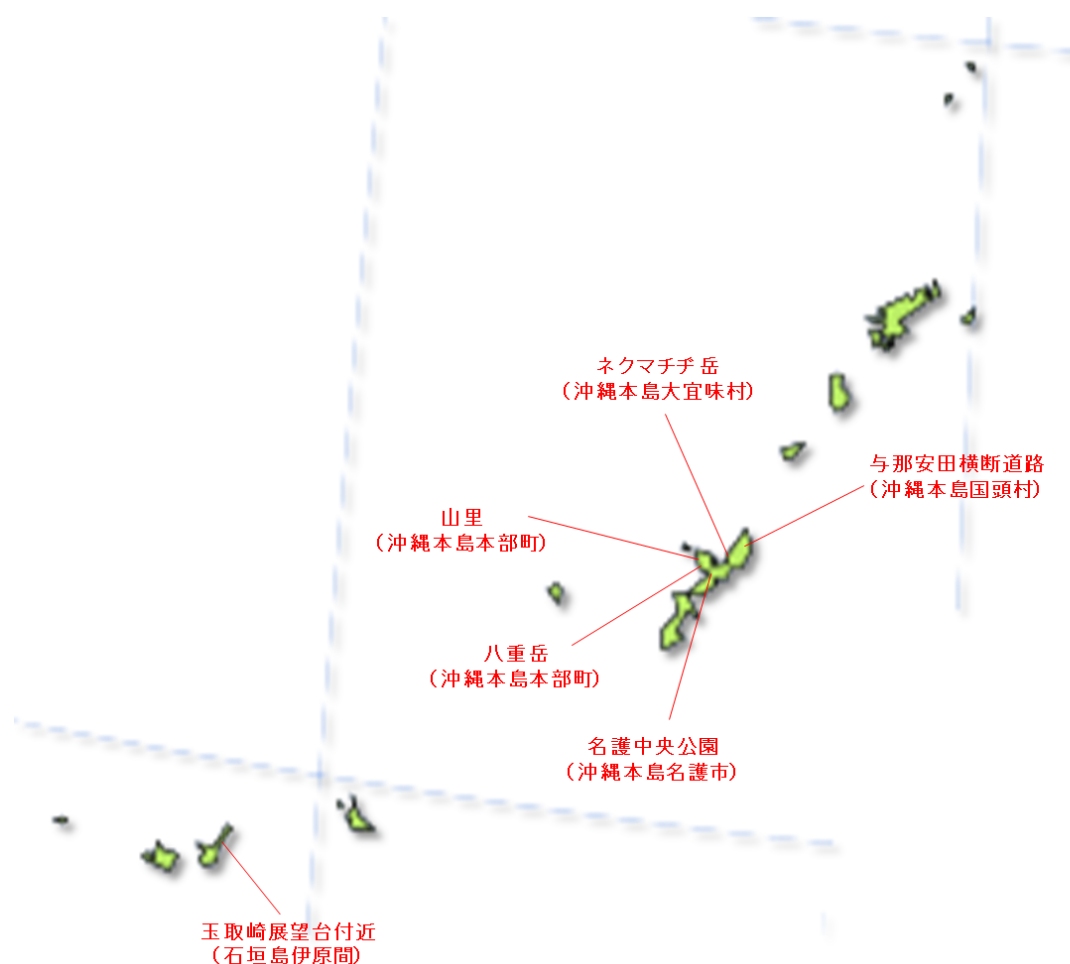


Figure 4-1. 南西諸島 6 地点のヤスデ採集地点

大宜味村、本部町八重岳、本部町山里の採取地では日中に落葉の下のヤスデを熊手で掻き分けて採集した。名護市、国頭村では夜間に徘徊するヤスデをブラックライトの照射により蛍光させて探し出し採集した。石垣島のヤスデは日中に徘徊していた個体を採集した。

Nb subsets/asap score	[36/11.0]	[26/12.0]	[15/5.5]	[13/4.0]	[12/7.0]	[11/8.0]	[10/4.5]	[9/6.0]	[8/1.0]	[8/5.0]
Rank	[9]	[10]	[5]	[2]	[7]	[8]	[3]	[6]	[1]	[4]
seq1-1_Travassosinema_claudiae										
seq1-1_Rhigonema_naylae	6	6	19	19	19	19	19	19	19	19
seq1-2_Rhigonema_naylae										
seq1-3_Rhigonema_naylae										
seq2-1_Rhigonema_naylae										
seq2-2_Rhigonema_naylae										
seq2-3_Rhigonema_naylae										
seq3-1_Rhigonema_naylae		4								
seq4-1_Rhigonema_naylae										
seq5-2_Rhigonema_naylae										
seq3-2_Rhigonema_naylae										
seq4-2_Rhigonema_naylae	2	3								
seq4-3_Rhigonema_naylae										
seq5-1_Rhigonema_naylae										
seq6-1_Rhigonema_naylae										
seq6-2_Rhigonema_naylae		3								
seq7-1_Rhigonema_naylae										
seq7-2_Rhigonema_naylae										
seq40-1_Rhigonema_naylae	2	2								
seq40-2_Rhigonema_naylae										
seq27-1_Rhigonema_sp.2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
seq28-1_Rhigonema_sp.2										
seq32-1_Rhigonema_sp.1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
seq32-2_Rhigonema_sp.1										
seq32-3_Rhigonema_sp.1										
seq9-1_Rhigonematoides_sp.1			3	3	5	6	6	6	6	6
seq10-1_Rhigonematoides_sp.1										
seq9-2_Rhigonematoides_sp.1										
seq8-1_Rhigonematoides_sp.1	2	2	2	2						
seq8-2_Rhigonematoides_sp.1										
seq11-1_Rhigonematoides_sp.1										
seq30A-1Rhigonematoides_sp.2	2	2	6	7	7	7	7	8	8	8
seq30A-2Rhigonematoides_sp.2										
seq39A-1Rhigonematoides_sp.2	2	2								
seq39A-2Rhigonematoides_sp.2										
seq29A-1Rhigonematoides_sp.2										
seq26A-1Rhigonematoides_sp.2										
seq29A-2Rhigonematoides_sp.2										
seq27A-1Rhigonematoides_sp.2										
seq26C-1Rhigonematoides_sp.4										
seq39C-1Rhigonematoides_sp.4										
seq27C-1Rhigonematoides_sp.4	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4
seq28C-1Rhigonematoides_sp.4										
seq29C-1Rhigonematoides_sp.3			2	2	2	2	3	3	3	3
seq30B-2Rhigonematoides_sp.3										
seq30B-1Rhigonematoides_sp.3										

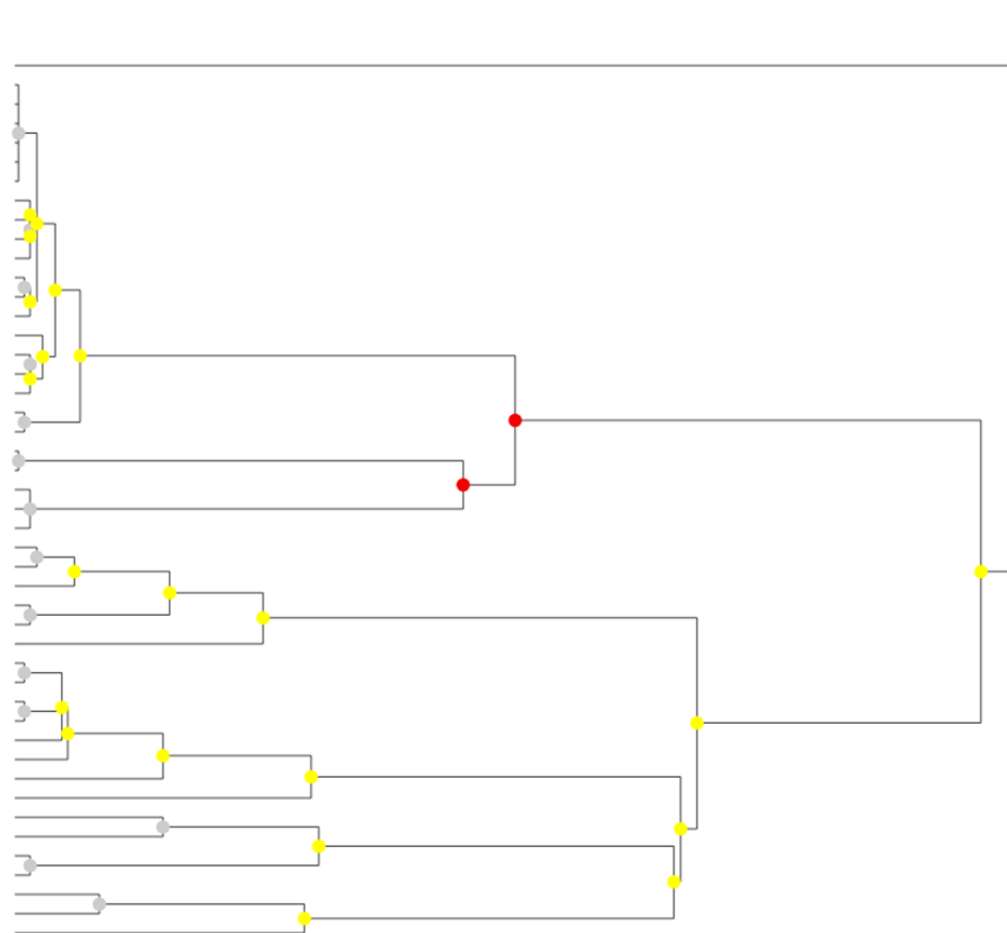


Figure 4-2. Rhigonematoidea 上科線虫の ASAP による種分割

右の系統樹は遺伝的距離のみに基づいて構築した系統関係を示し、左の箱図は種分割のパターンを示す。*最適な種分割パターン。左の文字列は使用したシーケンスデータを示し、シーケンス番号は以下の宿主ヤスデから分離された線虫の何番目に決定したシーケンスかを表す。例えば、Seq1-3 は春日井市で採集したミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp. 1 から分離した線虫から3番目に決定したシーケンスを示す。

Seq1_春日井市ミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp. 1 から分離

Seq2_春日井市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

Seq3_関市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離

Seq4_岐阜市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離

Seq5_岐阜市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

Seq6_山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

Seq7_山県市ヒダババヤスデ *P. longa* から分離

Seq8_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離

Seq9_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離

Seq10_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq11_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq26_名護市ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq27_国頭村クロオキナワアマビコヤスデ *R. falcifera* から分離

Seq28_国頭村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq29_本部町八重岳ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq30_本部町山里ボコックヤエタケヤスデ *Y. neptuna* から分離

Seq32_伊原間ヤットコアマビコヤスデ *R. chelifera* から分離

Seq39_大宜味村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq40_藤枝市ドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

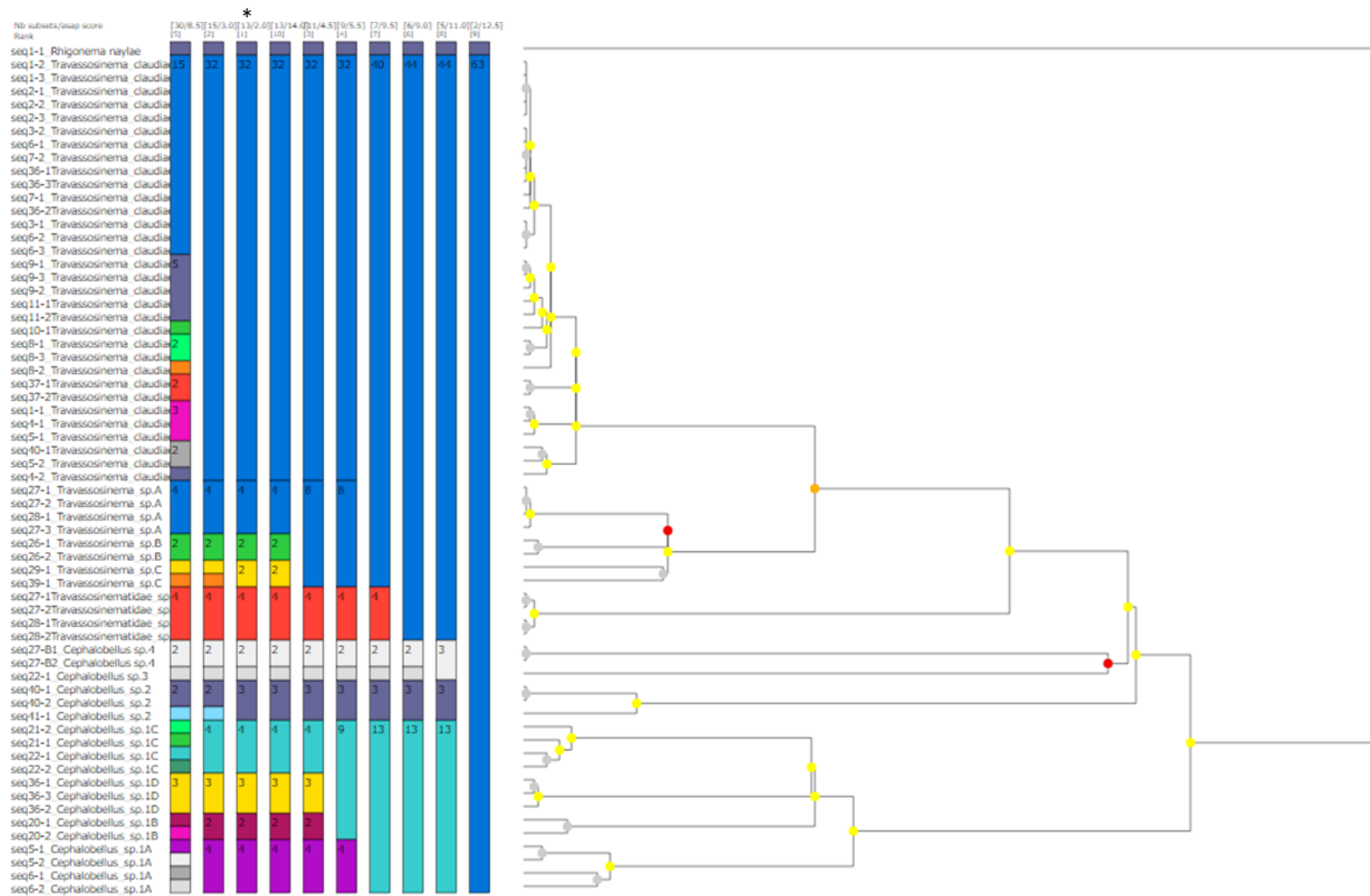


Figure 4-3. Travassosinematidae 科線虫と *Cephalobellus* 属線虫の ASAP による種分割

右の系統樹は遺伝的距離のみに基づいて構築した系統関係を示し、左の箱図は種分割のパターンを示す。*最適な種分割パターン。左の文字列は使用したシーケンスデータを示し、シーケンス番号は以下の宿主ヤスデから分離された線虫の何番目に決定したシーケンスかを表す。

- Seq1_春日井市ミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp. 1 から分離
- Seq2_春日井市オビババヤスデ *P. laminata* から分離
- Seq3_関市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離
- Seq4_岐阜市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp. 2 から分離
- Seq5_岐阜市オビババヤスデ *P. laminata* から分離
- Seq6_山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離
- Seq7_山県市ヒダババヤスデ *P. longa* から分離
- Seq8_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離
- Seq9_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離
- Seq10_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離
- Seq11_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離
- Seq20_静岡市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離
- Seq21_八王子市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離
- Seq22_八王子市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離
- Seq26_名護市ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離
- Seq27_国頭村クロオキナワアマビコヤスデ *R. falcifera* から分離
- Seq28_国頭村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離
- Seq29_本部町八重岳ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離
- Seq36_不破郡コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離
- Seq37_徳島市ミドリババヤスデ種複合体種 4 *P. tonominea* SPCX sp. 4
- Seq39_大宜味村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離
- Seq40_藤枝市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離
- Seq41_藤枝市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

Nb subsets/asap score	[17/10.0]	[15/7.0]	[14/4.5]	[10/7.0]	[9/4.0]	[8/3.5]	[7/2.5]	[6/8.0]	[3/10.0]	[2/3.0]
Rank	[10]	[6]	[5]	[7]	[4]	[3]	[1]	[8]	[9]	[2]
seq1-1_Rhigonema naylae										
seq27-1Thelastomatidae sp.1C				3	3	3	5	5	10	16
seq27-2Thelastomatidae sp.1C										
seq28-1Thelastomatidae sp.1C										
seq39-1Thelastomatidae sp.1C				2	2	2				
seq39-2Thelastomatidae sp.1C										
seq29-1Thelastomatidae sp.1B					2	3	3	3		
seq30-1Thelastomatidae sp.1B										
seq26-1Thelastomatidae sp.1B										
seq8-1_Thelastomatidae sp.1A										
seq32-1Thelastomatidae sp.1D										
seq9-1_Thelastomatidae sp.2A		2	3	3	3	3	3	6	6	
seq10-1Thelastomatidae sp.2A										
seq10-2Thelastomatidae sp.2A										
seq11-1Thelastomatidae sp.2B	2	2	3	3	3	3				
seq11-2Thelastomatidae sp.2B										
seq9-2_Thelastomatidae sp.2B										

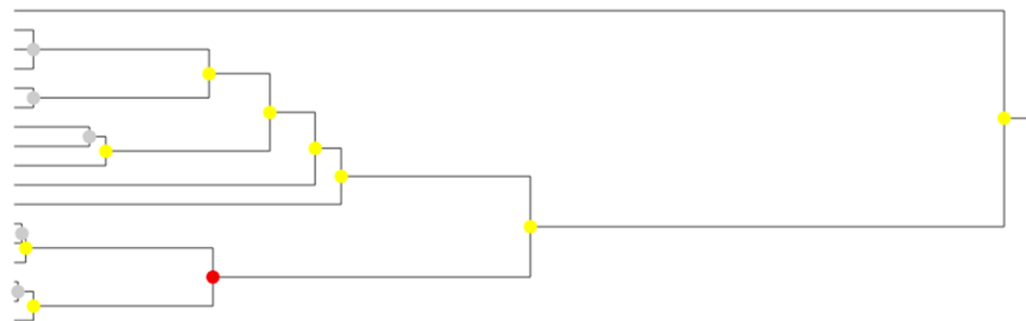


Figure 4-4. Thelastomatidae 科線虫の ASAP による種分割

右の系統樹は遺伝的距離のみに基づいて構築した系統関係を示し、左の箱図は種分割のパターンを示す。*最適な種分割パターン。左の文字列は使用したシーケンスデータを示し、シーケンス番号は以下の宿主ヤスデから分離された線虫の何番目に決定したシーケンスかを表す。

Seq1_春日井市ミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp. 1 から分離

Seq8_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離

Seq9_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離

Seq10_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq11_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq26_名護市ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq27_国頭村クロオキナワアマビコヤスデ *R. falcifera* から分離

Seq28_国頭村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

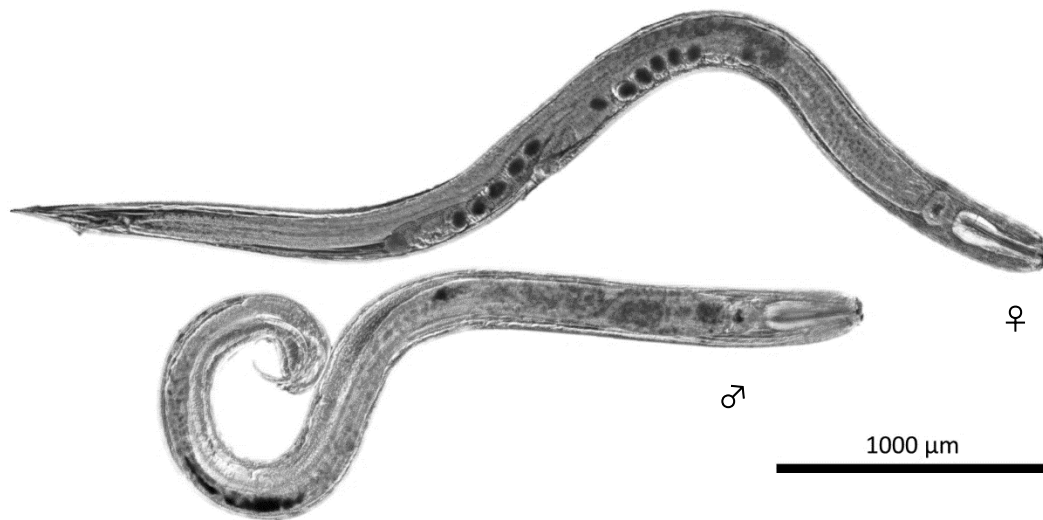
Seq29_本部町八重岳ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq30_本部町山里ポコックヤエタケヤスデ *Y. neptuna* から分離

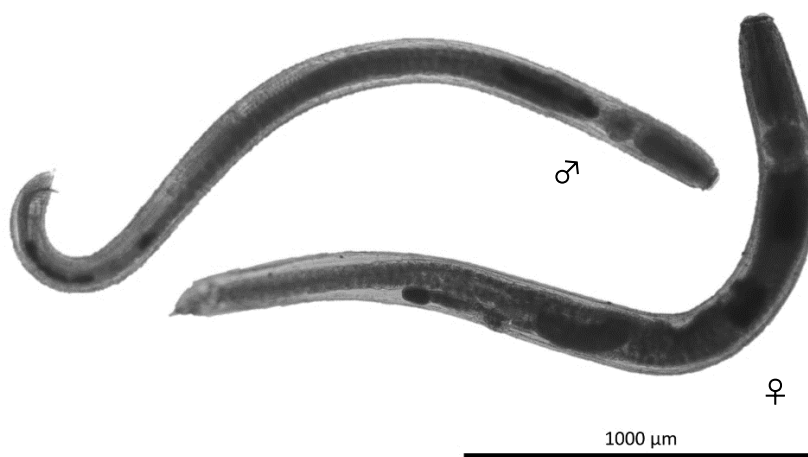
Seq32_伊原間ヤットコアマビコヤスデ *R. chelifera* から分離

Seq39_大宜味村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

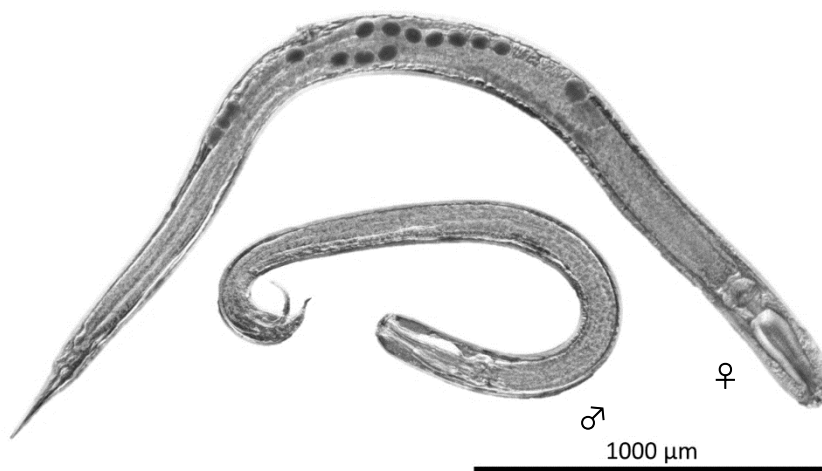
Rhigonematoidea sp. 2



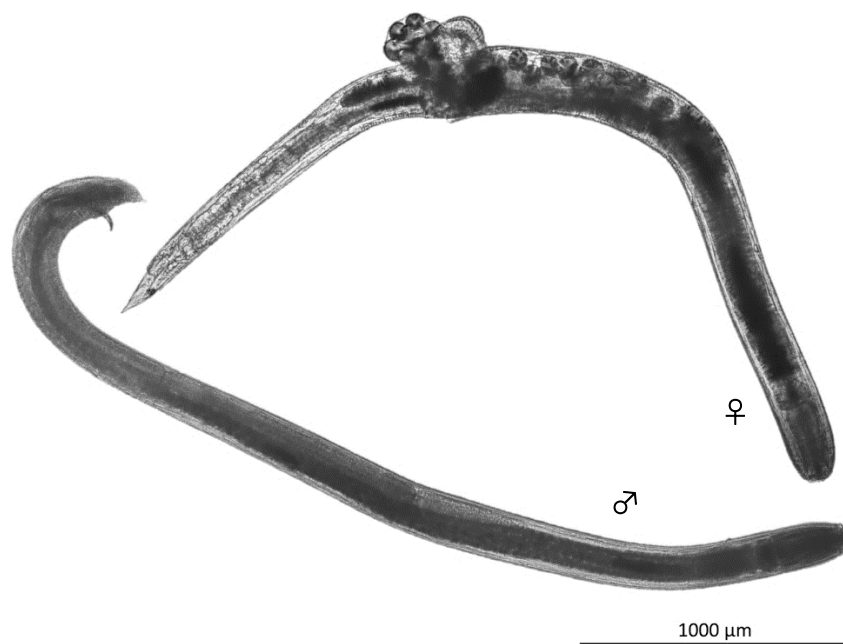
Rhigonematoidea sp. 3



Rhigonematoidea sp. 4



Rhigonema sp. 1



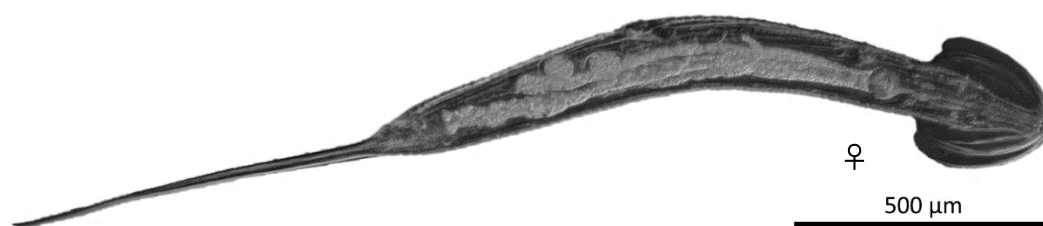
Rhigonema sp. 2



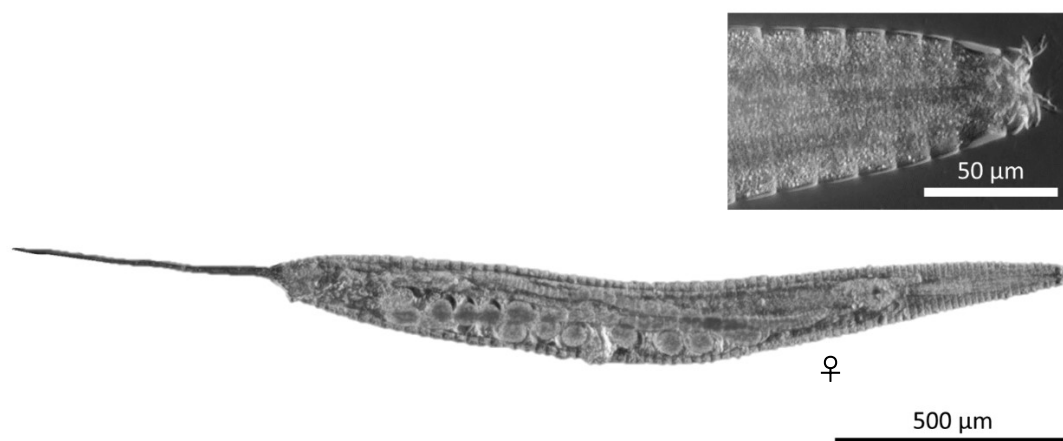
Figure 4-5. 南西諸島のヤスデから分離した Rhigonematoidea 上科線虫

図の個体は *Rhigonematoidea* sp. 2 が国頭村のクロオキナワアマビコヤスデから、*Rhigonematoidea* sp. 3 が本部町山里のポコックヤエタケヤスデから、*Rhigonematoidea* sp. 4 が国頭村のホルストアマビコヤスデから、*Rhigonema* sp. 1 が伊原間のヤットコアマビコヤスデから、*Rhigonema* sp. 2 の雄が国頭村クロオキナワアマビコヤスデ、雌が国頭村ホルストアマビコヤスデから分離・観察したもので、*Rhigonematoidea* sp. 3 の雄以外は DNA シーケンスを決定して種同定を行った。*Rhigonematoidea* sp. 3 の雄は同様の形態を持つ撮影していない雄線虫の DNA シーケンスによる種同定結果を元に同定した。*Rhigonematoidea* sp. 4 の雄は未成熟個体であり、*Rhigonema* sp. 1 の雌は陰門付近から破裂している。

Travassosinema sp.



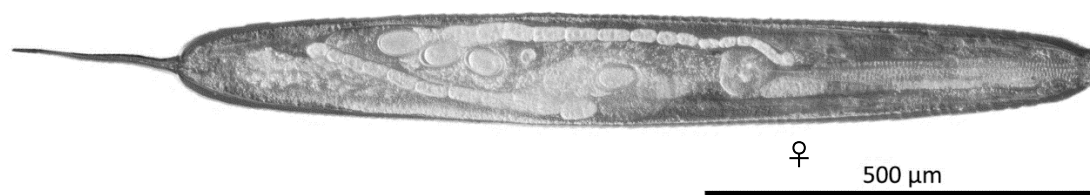
Travassosinematidae sp.



Cephalobellus sp. 4



Thelastomatoidea sp.



Thelastomatidae sp. 1B



Thelastomatidae sp. 1C



Thelastomatidae sp. 1D

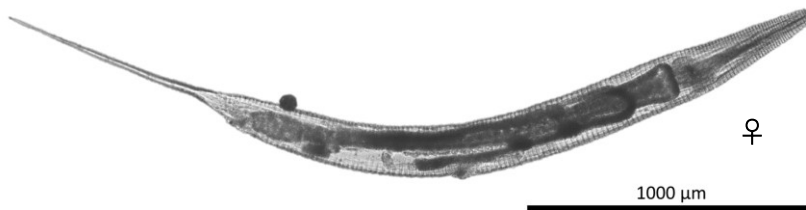


Figure 4-6. 南西諸島のヤスデから分離した Thelastomatoidea 上科線虫

図の個体は *Travassosinema* sp.、*Travassosinematidae* sp.、*Cephalobellus* sp. 4 が国頭村クロオキナワアマビコヤスデから、*Thelastomatidae* sp. 1C が国頭村ホルストアマビコヤスデから、*Thelastomatidae* sp. 1D が伊原間ヤットコアマビコヤスデから、*Thelastomatidae* sp. 1B、*Thelastomatoidea* sp. が名護市ホルストアマビコヤスデから分離・観察したもので、DNA シーケンスを決定して種同定を行った。

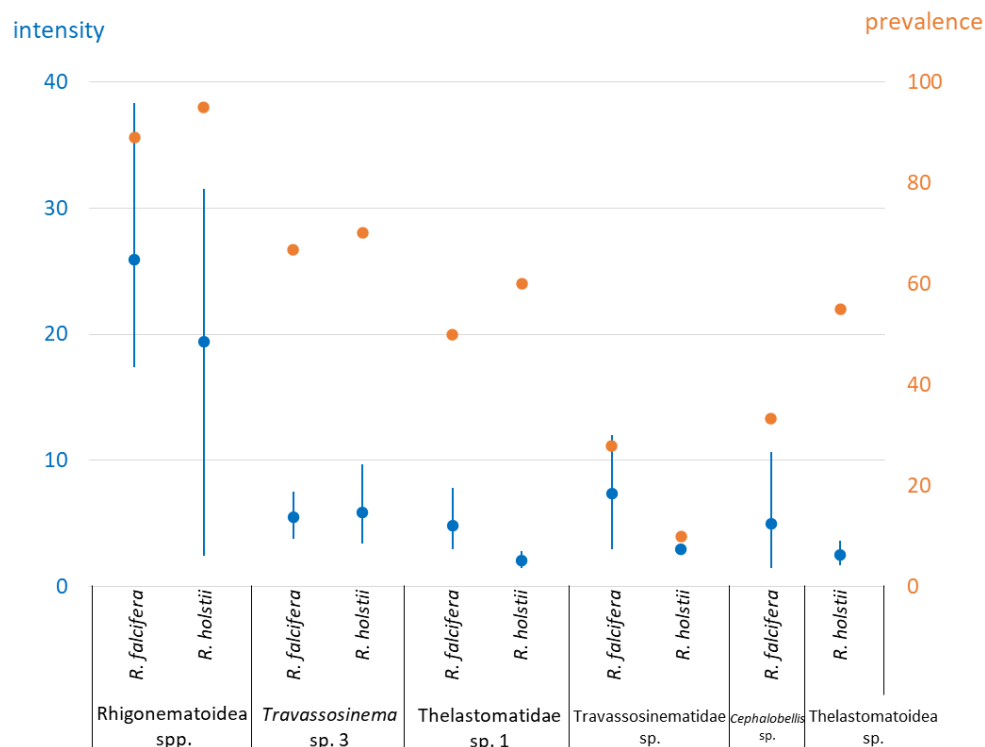


Figure 4-7. クロオキナワアマビコヤスデとホルストアマビコヤスデに共通して感染する3種の Thelastomatoidea 上科線虫と Rhigonematoidea spp.の個体群構成

オレンジの点と右の縦軸は感染率を表し、青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の 95%信頼区間を表す。クロオキナワアマビコヤスデ (*R. falcifera*, N=18)とホルストアマビコヤスデ (*R. holstii*, N=20)のそれぞれに寄生する Rhigonematoidea spp. の雄成虫 (Male)、雌成虫 (Female)、幼虫 (Juvenile)、および *Travassosinema* sp.、*Thelastomatidae* sp. 1、*Travassosinematidae* sp. の雌成虫 (Female)それぞれの個体群構成を示した。* $p < 0.05$, Fisher の正確検定 (感染率の比較)

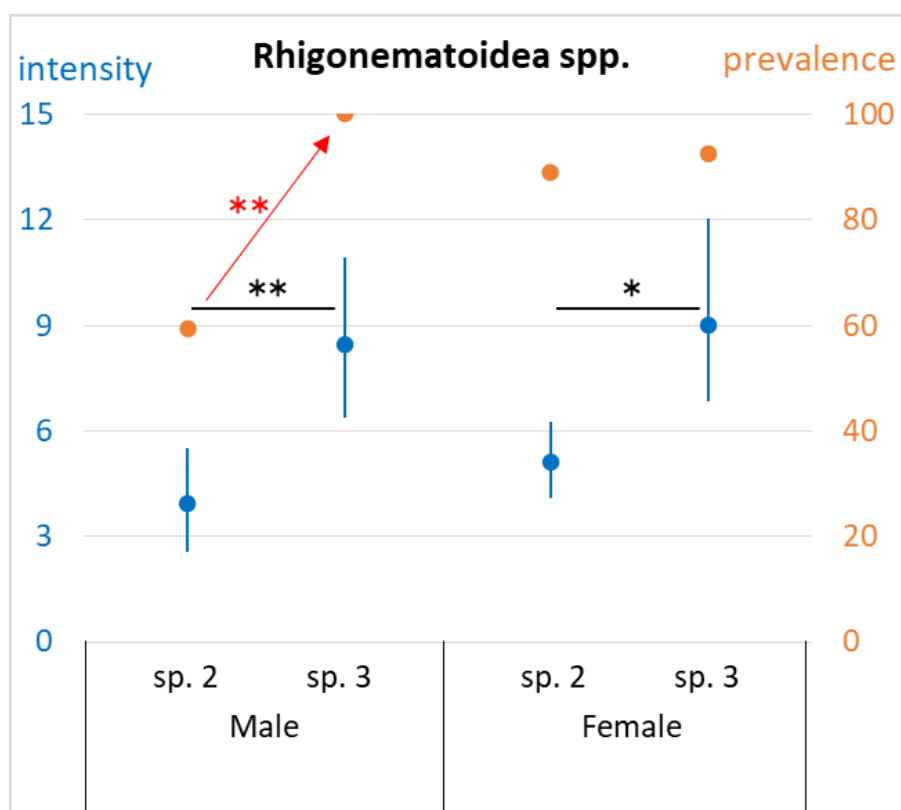


Figure 4-8 ポコックヤエタケヤスデに感染する 2 種の Rhigonematoidea 上科線虫の個体群構成の比較

オレンジの点と右の縦軸は感染率を表し、青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の 95%信頼区間を表す。ポコックヤエタケヤスデ (N=27) に寄生する Rhigonematoidea sp. 1 および sp. 2 の雄成虫 (Male)、雌成虫 (Female) それぞれの個体群構成を示した。幼虫は種の判断の基準となる生殖針と膈が不明瞭で種の判別ができないため省いた。* $p < 0.05$. ** $p < 0.005$, Fisher の正確検定 (感染率の比較) およびブートストラップ 2 標本 t-検定 (平均感染頭数の比較)

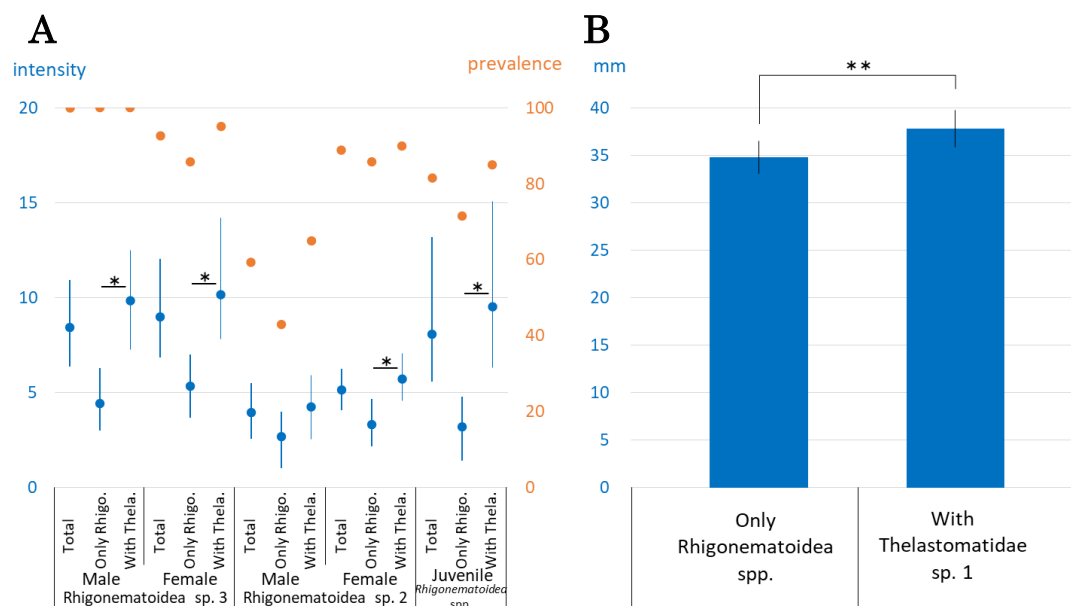


Figure 4-9 ポコックヤエタケヤスデにおける Rhigonematoidea spp. と Thelastomatidae sp. 1 の共感染による影響

ポコックヤエタケヤスデ (N=27) に感染する Thelastomatidae sp. 1 が感染していない場合 (N=7) と感染している場合 (N=20) における (A) Rhigonematoidea sp. 1 および sp. 2 の雄成虫 (Male)、雌成虫 (Female)、未同定の幼虫それぞれの個体群構成と、(B) 宿主ヤスデの体長を示した。(A) オレンジの点と右の縦軸は感染率を表し、青の点と左の縦軸は平均感染頭数を表す。エラーバーは平均感染頭数の 95% 信頼区間を表す。(B) 棒グラフと縦軸は体長平均を表し、エラーバーは標準偏差を示す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, (A) Fisher の正確検定 (感染率の比較) とブートストラップ 2 標本 t-検定 (平均感染頭数の比較)、(B) t 検定 (体長の比較)

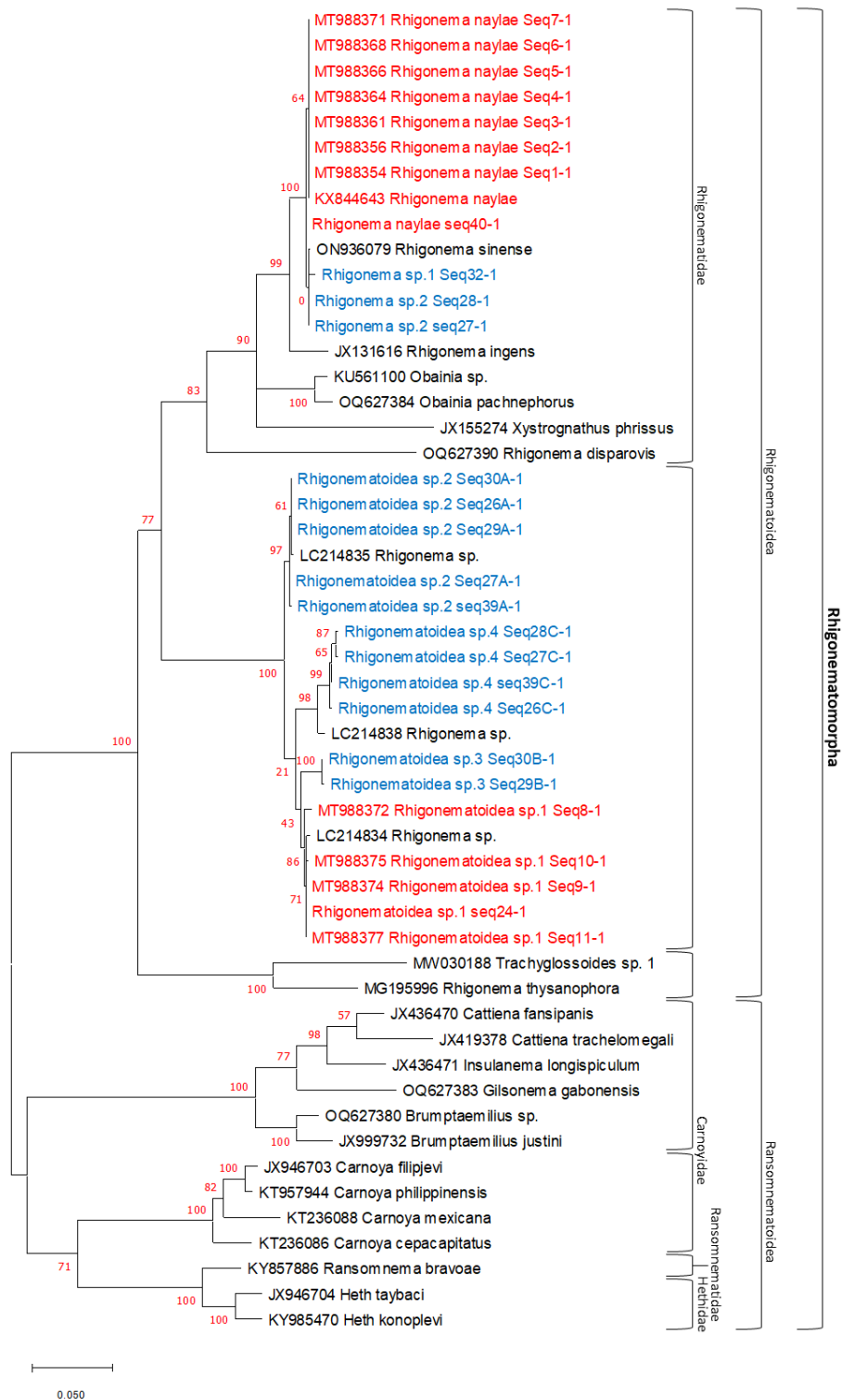


Figure 4-10 南西諸島、九州、本州のババヤスデ科ヤスデに寄生する Rhigonematoidea 上科線虫の 28S リボソーム RNA 遺伝子系統樹

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域(695 bp)より最尤法(maximum likelihood method)を用いて構築した。1000 反復のブートストラップによって決定された信頼度(%)を分岐点の横に示した。本研究で新たに取得したシーケンスのうち第 3 章の系統樹(Figure 3-12)で使用した本州および九州の線虫のシーケンスは引き続き赤で示し、南西諸島の線虫のシーケンス(詳細については以下に記載)を青で示した。

Seq26_名護市ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq27_国頭村クロオキナワアマビコヤスデ *R. falcifera* から分離

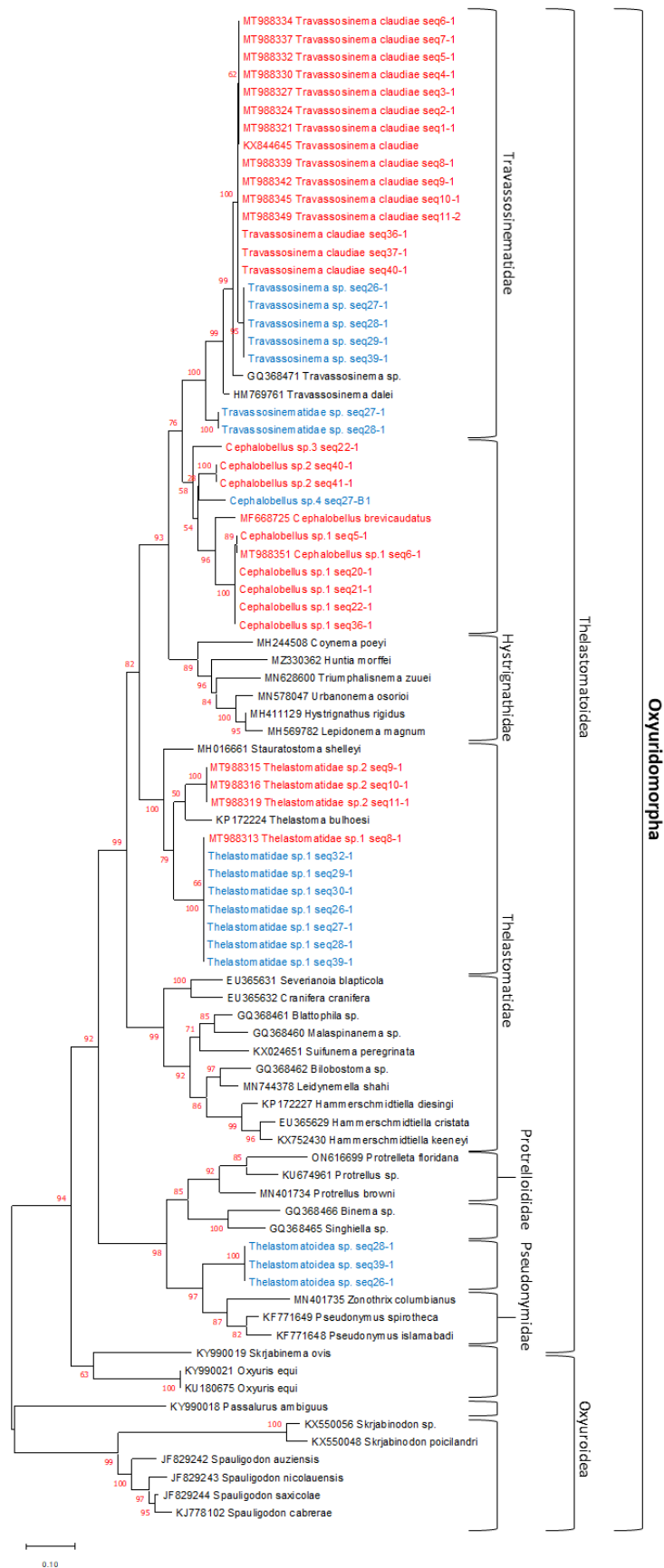
Seq28_国頭村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq29_本部町八重岳ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq30_本部町山里ポコックヤエタケヤスデ *Y. neptuna* から分離

Seq32_伊原間ヤットコアアマビコヤスデ *R. chelifera* から分離

Seq39_大宜味村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離



**Figure 4-11 南西諸島、九州、本州のババヤスデ科ヤスデに寄生する
Thelastomatoidea 上科線虫の 28S リボソーム RNA 遺伝子系統樹**

28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域(609 bp)より最尤法(maximum likelihood method)を用いて構築した。1000 反復のブートストラップによって決定された信頼度(%)を分岐点の横に示した。本研究で新たに取得したシーケンスのうち第 3 章の系統樹(Figure 3-12)で使用した本州および九州の線虫のシーケンスは引き続き赤で示し、南西諸島の線虫のシーケンス(詳細については以下に記載)を青で示した。

Seq26_名護市ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq27_国頭村クロオキナワアマビコヤスデ *R. falcifera* から分離

Seq28_国頭村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

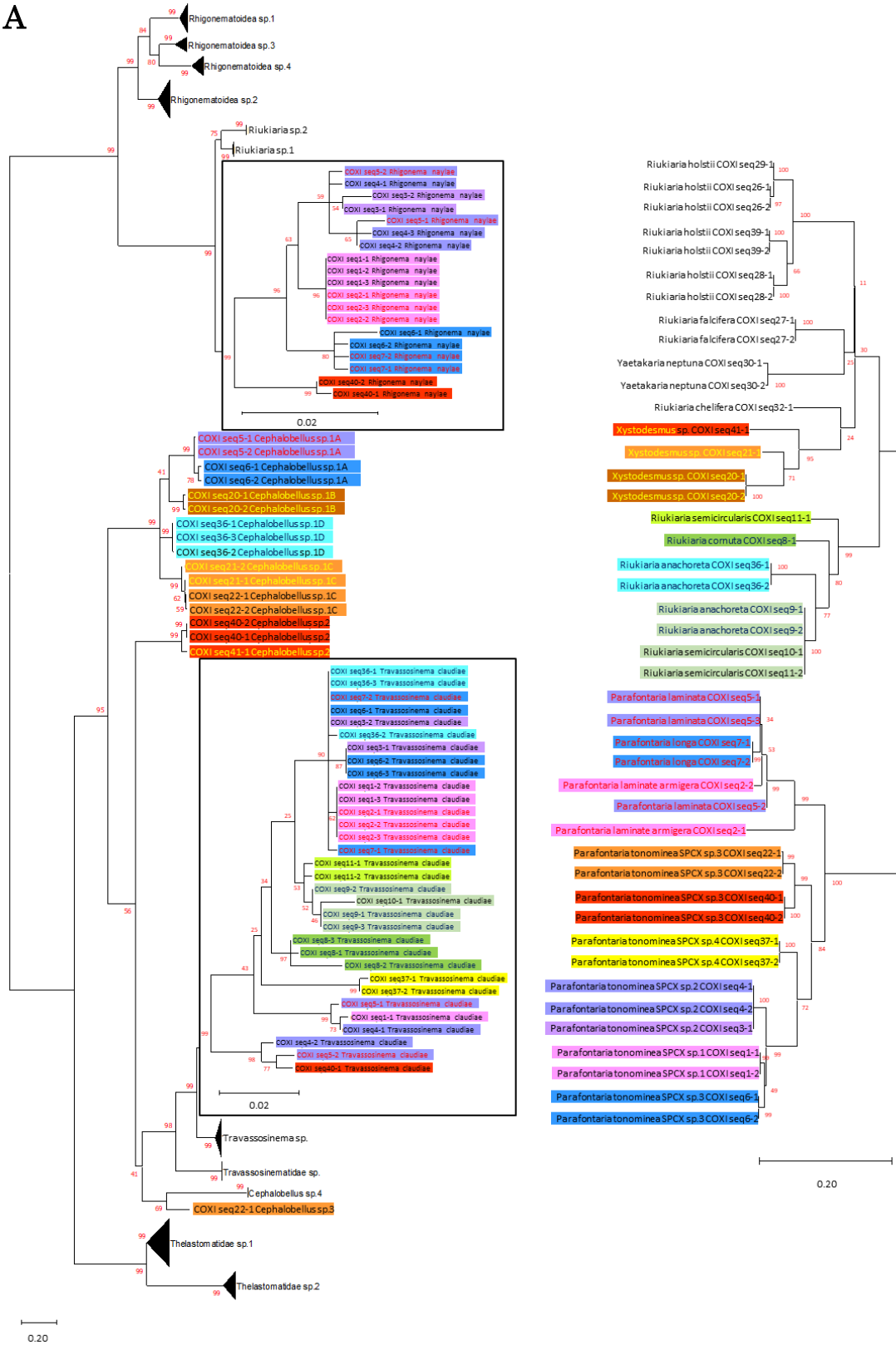
Seq29_本部町八重岳ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq30_本部町山里ポコックヤエタケヤスデ *Y. neptuna* から分離

Seq32_伊原間ヤットコアアマビコヤスデ *R. chelifera* から分離

Seq39_大宜味村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

A



B

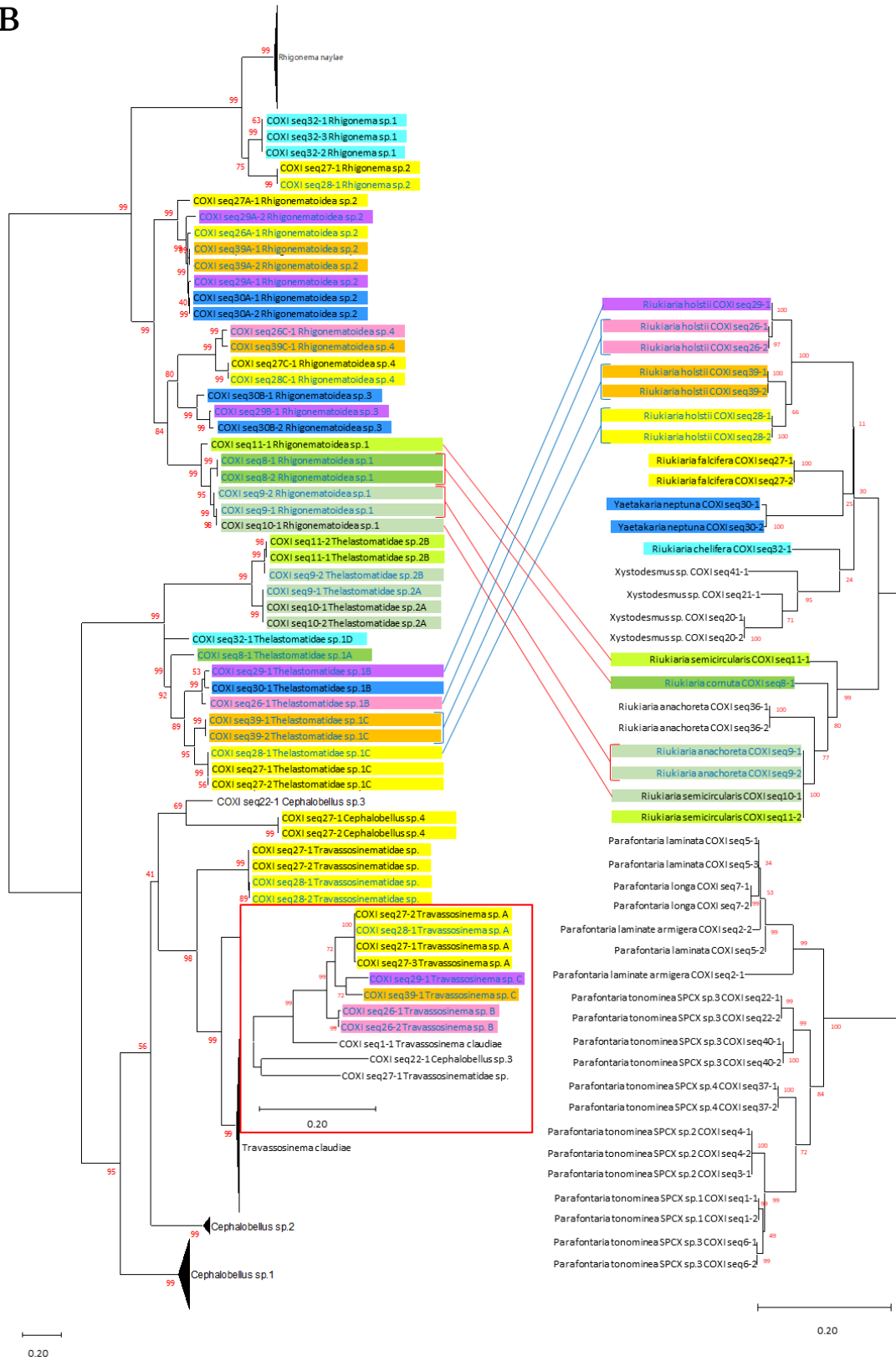


Figure 4-12 ヤスデ寄生性線虫と宿主ヤスデの COXI 遺伝子系統樹

COXI 遺伝子 (線虫 507 bp, ヤスデ 620 bp) より最尤法 (maximum likelihood method) を用いて構築した。1000 反復のブートストラップによって決定された信頼度 (%) を分岐点の横に示した。2 つの系統樹の下にあるスケールバーは系統樹の枝の長さなどの程度の遺伝的距離であるかを表す。シーケンス名は宿主ヤスデの生息地ごとに色分けし、同所的に生息する宿主ヤスデの種は文字を色分けして示した。(A) 本州、九州、四国のババヤスデ科宿主と *R. nayale*, *T. claudiae*, *Cephalobellus* sp. 1 および sp. 2 の系統関係を示した。*R. nayale* および *T. claudiae* は遺伝的距離が極めて小さいため、黒枠内に拡大して示した。枠内のスケールバーは全体のスケールバーの10分の1の遺伝的距離を表す。(B) 南西諸島、九州のババヤスデ科宿主と Rhigonematoidea spp.、Thelastomatidae spp.、*Travassosinema* sp. の系統関係を示した。*Travassosinema* sp. は全体の系統樹では系統関係が不明瞭であったため、近縁種以外を除外して作成した個別の系統樹を赤枠内に示した。枠内のスケールバーは全体のスケールバーと同じ遺伝的距離を表す。ホルストアマビコヤスデ宿主と Thelastomatidae sp. 1、九州のアマビコヤスデ属宿主と Rhigonematoidea sp. 1 の間で系統関係が一致したため、それぞれ青と赤の直線で対応するシーケンス同士を繋いで示した。これらの系統樹は本研究で新たに取得したシーケンスのみで構築した(詳細については以下に記載)。

Seq1_春日井市ミドリババヤスデ種複合体種 1 *P. tonominea* SPCX sp1 から分離

Seq2_春日井市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

Seq3_関市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp2 から分離

Seq4_岐阜市ミドリババヤスデ種複合体種 2 *P. tonominea* SPCX sp2 から分離

Seq5_岐阜市オビババヤスデ *P. laminata* から分離

Seq6_山県市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp3 から分離

Seq7_山県市ヒダババヤスデ *P. longa* から分離

Seq8_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離

Seq9_鹿児島市宮之浦コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離

Seq10_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq11_鹿児島市城山公園アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

Seq20_静岡市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

Seq21_八王子市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

Seq22_八王子市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離

Seq26_名護市ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq27_国頭村クロオキナワアマビコヤスデ *R. falcifera* から分離

Seq28_国頭村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

Seq29_本部町八重岳ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離

- Seq30_本部町山里ポコックヤエタケヤスデ *Y. neptuna* から分離
- Seq32_伊原間ヤットコアマビコヤスデ *R. chelifera* から分離
- Seq36_不破郡コケイロアマビコヤスデ *R. anachoreta* から分離
- Seq37_徳島市ミドリババヤスデ種複合体種 4 *P. tonominea* SPCX sp. 4
- Seq39_大宜味村ホルストアマビコヤスデ *R. holstii* から分離
- Seq40_藤枝市ミドリババヤスデ種複合体種 3 *P. tonominea* SPCX sp. 3 から分離
- Seq41_藤枝市タカクワヤスデの一種 *Xystodesmus* sp. から分離

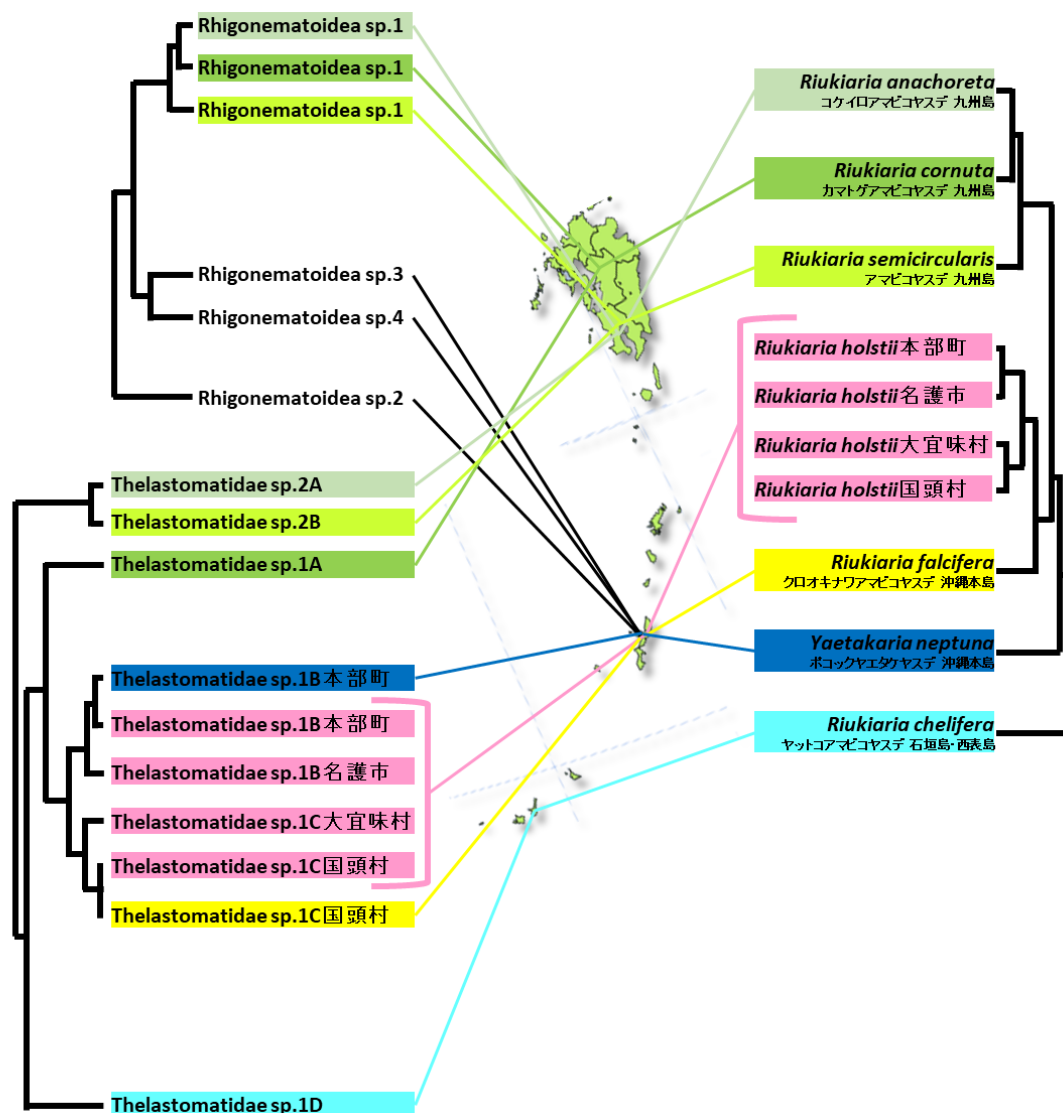


Figure 4-13 ババヤスデ科ヤスデ宿主と Rhigonematoidea spp. の系統関係

左上の系統樹は Rhigonematoidea 上科線虫、左下の系統樹は Thelastomatidae 科線虫、右の系統樹はアマビコヤスデ属ヤスデの系統関係を示す。宿主ヤスデと寄生性線虫の対応関係を色で示しており、そこから伸びる同じ色の線が交わる点が採取地を示す。Rhigonematoidea sp. 2, sp. 3 および sp. 4 は複数種の宿主ヤスデに寄生するため対応なしとして扱い、色を付けず線は黒で示した。アマビコヤスデ属ヤスデの系統樹は Means et al., 2021 の Figure 2 を基に改変したもので、九州のアマビコヤスデ属ヤスデ同士の系統関係とホルストアマビコヤスデ種内の系統関係は Figure 4-12B に従った。Rhigonematoidea spp. と Thelastomatidae 科線虫の系統樹は Figure 4-12B から抜粋したもの。

第 5 章 結言—分子系統解析から寄生性進化についての考察

5-1. 背景

第 2 章から第 4 章までの日本に生息するババヤスデ科ヤスデとその腸内に寄生する進化的に起源の異なる 2 つの寄生性線虫グループ Rhigonematoidea 上科と Thelastomatoidea 上科の調査にて、これらの寄生性線虫は本州・九州・沖縄本島のヤスデ宿主腸内にて異なる種の組み合わせであろうと競合することなく共存関係にあることが分かった。このことから、このような関係性はババヤスデ科ヤスデ全体に共通するものであり、2 つの寄生性線虫グループの誕生した初期の時点で確立された可能性を考察した。

Thelastomatoidea 上科は Oxyuridomorpha 下目、Rhigonematoidea 上科は Rhigonematomorpha 下目に所属し、それぞれ進化的に全く異なる Spirurina 亜目線虫である。Oxyuridomorpha 下目はそのシンプルな生活環から、最古の陸上動物であるとされるヤスデを宿主に自由生活性の土壌線虫から進化したという提案がされており、Rhigonematomorpha 下目はヤスデ寄生性線虫のみから構成されることから同様にシンプルな生活環を持つと予測されている (Adamson, 1994; Hunt, 1996b)。そのため、これらの寄生性線虫は様々な寄生性を発達させている Spirurina 亜目のなかでも最も原始的なグループである可能性が考えられる。

そこで、Spirurina 亜目全体の系統解析を行うことで Oxyuridomorpha 下目と Rhigonematomorpha 下目の系統的位置とほかのグループとの系統関係を明らかにし、Spirurina 亜目の様々な寄生性がどのようにして進化したかを考察した。

5-2. 材料と方法

5-2-1. Spirurina 亜目の分子系統解析

Spirurina 亜目の各グループ間の系統関係を解析するため、第 3 章 3-2-4 と同様に NCBI のデータベースに登録された Spirurina 亜目線虫の 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域と 18S リボソーム RNA 遺伝子のシーケンスデータを集め、どちらの遺伝子も登録されている種を選抜してそれぞれアライメントとギャップの除去を行った。このとき、これまでの研究でこれら 2 つの遺伝子を決定したヤスデ寄生性線虫とケラ寄生性線虫のシーケンス(Unpublished data)も加えた。ギャップ等処理した後の 18S リボソーム RNA 遺伝子のシーケンスデータに 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域のシーケンスデータを繋いだ配列を用いて、第 3 章 3-2-4 と同様に系統樹を作成した(ケラ寄生性線虫のシーケンスは間引き作業で除去された)。なお、アウトグループとして Tylenchina 亜目を加えると一部のグループがまとまらなくなり、Rhabditina 亜目は 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域が他の線虫より 150 bp ほど短くてアライメントが正常に行えないため、今回は使用していない。その結果、共通祖先の位置を示さない系統樹となったため、共通祖先の位置を定義せずグループ間の遺伝的距離を示す形式の無根系統樹を使用した。

5-2-2. Cosmocercoidea 上科の分子系統解析

第 3 章および第 4 章 Rhigonematomorpha 下目の系統解析では、Ascaridomorpha 下目だとされる Heterakoidea 上科と Cosmocercoidea 上科の Cosmocercoidea 科が Rhigonematomorpha 下目とクラスター化したことから、Cosmocercoidea 上科と Rhigonematomorpha 下目の系統関係の解析を行った。Cosmocercoidea 上科に属する Kathlaniidae 科と Atractidae 科は、データベースに 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域が登録されておらず、28S リボソーム RNA 遺伝子 D1/D2 領域のみが登録されていた。そのため、系統解析に必要な Ascaridomorpha 下目、Rhigonematomorpha 下目、アウトグループの Oxyuridomorpha 下目の 28S リボソーム RNA 遺伝子 D1/D2 領域のシーケンスを集め、ほとんどの線虫種に共通して登録されていた 18S リボソーム RNA 遺伝子と合わせて Spirurina 亜目全体の系統解析と同様の手順で処理した。処理後

のデータから第 3 章 3-2-4 と同様に系統樹を作成した。

5-3. 結果

5-3-1. Spirurina 亜目の各グループの系統関係

Spirurina 亜目を 6 分割する下目、Oxyuridomorpha 下目、Rhigonematomorpha 下目、Ascaridomorpha 下目、Gnathostomatomorpha 下目、Spiruromorpha 下目、Camallanomorpha 下目から選んだ代表種の 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域と 18S リボソーム RNA 遺伝子を使用して作成した系統樹は、Ascaridomorpha 下目と Rhigonematomorpha 下目が共にクラスター化し、このクラスターと他の 4 下目が明確に分離した (Figure 5-1)。さらに、Spiruromorpha 下目と Camallanomorpha 下目の遺伝的距離はごく近く、単一のクラスターを成した。そのため、Spirurina 亜目は大きく分けて Oxyuridomorpha 下目、Gnathostomatomorpha 下目、Camallanomorpha 下目と Spiruromorpha 下目のクラスター、Ascaridomorpha 下目と Rhigonematomorpha 下目のクラスター、以上 4 クラスターに大別されることが分かった。

これら 4 クラスター間の遺伝的距離は Ascaridomorpha 下目と Rhigonematomorpha 下目のクラスターがほかの 3 クラスターと最も近く、ほかの 3 クラスター同士の距離はその 2 倍弱だった。そのため、Ascaridomorpha 下目と Rhigonematomorpha 下目のクラスターは、遺伝的に大きく離れた他の 3 クラスターの間位置することが分かった。

Oxyuridomorpha 下目に注目すると、節足動物を宿主とする Thelastomatoidea 上科は脊椎動物を宿主とする Oxyuroidea 上科の側系統群 (単一の起源を持つ生物同士をまとめたグループである単系統群の中から、より小さな単系統群を除いた残り全てをまとめたグループ) を成し、Oxyuroidea 上科のなかでも主にトカゲを宿主とする Pharyngodonidae 科が脊椎動物を宿主とする Oxyuridae 科の側系統群を成していた (Figure 5-3)。従って、Oxyuridomorpha 下目は Oxyuroidea 上科より Thelastomatoidea 上科のほうが原始的なグループであり、Oxyuroidea 上科は Thelastomatoidea 上科線虫から誕生したグループであることが示された。同様に Oxyuroidea 上科は Pharyngodonidae 科が原始的なグループであり、Oxyuridae 科は Pharyngodonidae 科から誕生したグループであることが示された。このことから、Oxyuridomorpha 下目は節

足動物を宿主とする寄生性線虫が共通祖先であり、様々な節足動物へと宿主範囲を拡大して多様化するなかでトカゲを宿主とするものが現れ、トカゲを宿主に脊椎動物の寄生虫へと進化したものから哺乳類(あるいはそのステムグループ)を宿主とするものが現れたのだと考えた。

5-3-2. Cosmocercoidea 上科の多系統性

Cosmocercoidea 上科と Rhigonematomorpha 下目の系統関係を示す系統樹を作成したところ、Cosmocercidae 科が Rhigonematomorpha 下目とクラスター化した一方、Kathlaniidae 科は Cucullanidae 科や Quimperiidae 科と共に Seuratoidea 上科に含まれ、Atractidae 科はこれらとクラスター化した(Figure 5-2)。そのため、Cosmocercoidea 上科は多系統群(系統的に異なる起源を持つ生物同士を共通の特徴からまとめた分類学的に正しくないグループ)であり、Cosmocercidae 科は Kathlaniidae 科や Atractidae 科との間に類縁関係がないと考えた。Seuratoidea 上科は Cosmocercoidea 上科同様に Ascaridomorpha 下目に所属するとされているが、Spirurina 亜目の系統解析では Gnathostomatoidea 上科とクラスター化し、Ascaridomorpha 下目や Rhigonematomorpha 下目とは明確に分離した(Figure 5-1)。そのため、Kathlaniidae 科を含む Seuratoidea 上科および Atractidae 科は Gnathostomatomorpha 下目に所属する可能性が考えられる。

5-4. 考察

5-4-1. Spirurina 亜目の起源とヤスデ寄生性線虫

線虫は一般に海洋起源であるとされており、Chromadoria 亜綱では海生自活性線虫から Rhabditida 目などの陸生自活性線虫が誕生したことが系統解析から示されている(Blaxter & Koutsovoulos, 2015) (Figure 5-4A)。線虫は間隙水に生息することで陸生化を果たしたとされ、デボン紀初期には節足動物の土壌動物と共に土壌で生息していた記録がある(van Straalen, 2021; Dunlop & Garwood, 2018)。分子系統解析によれば、陸上植物と陸上節足動物はカンブリア紀には既に陸上進出していたとされている(Fernández et al., 2018; Morris et al., 2018)。そのため、Rhabditida 目線虫もカンブ

リア紀には陸上進出していた可能性が考えられる。Rhabditida 目に属する Spirurina 亜目の初期の寄生性線虫は、姉妹群である自由生活性の土壌線虫と同様に細菌を餌にし、腸内細菌叢に依存すると考えられている (Adamson, 1994)。そのため、デボン紀以前から土壌線虫と共に土壌で暮らしているヤスデが植物遺骸と共に土壌線虫やその卵を摂取することで、単純な生活環を持ち、腸内細菌を餌とする Oxyuridomorpha 下目線虫が誕生したと提案されている (Adamson, 1994) (Figure 5-4A)。今回の系統解析の結果、Oxyuridomorpha 下目は節足動物を宿主とする Thelastomatoidea 上科が原始的なグループであり、そこから脊椎動物を宿主とする Oxyuroidea 上科が誕生したことが分かったため、Oxyuridomorpha 下目がヤスデを宿主に自由生活性の土壌線虫から誕生したという提案を支持する結果となった。

また、ヤスデ寄生性線虫のみで構成される Rhigonematomorpha 下目は Ascaridomorpha 下目とクラスター化し、Oxyuridomorpha 下目とは全く異なる起源を持つことが確認できた。Rhigonematomorpha 下目は Oxyuridomorpha 下目以外の Spirurina 亜目線虫で唯一節足動物を終宿主とするグループであり、Oxyuridomorpha 下目と同様にシンプルな生活環を持つと考えられている (Hunt, 1996b)。そのため、Oxyuridomorpha 下目以外の Spirurina 亜目線虫では最も原始的な特徴を持つグループであると考えた。Rhigonematomorpha 下目と Ascaridomorpha 下目のクラスターは Spirurina 亜目を 4 つに大別するクラスターのなかで中間的な位置にあることから、Spirurina 亜目の共通祖先は最初に Oxyuridomorpha 下目とそれ以外全ての Spirurina 亜目線虫の祖先に分かれたのだと考えた (Figure 5-4B)。

5-4-2. ヤスデ寄生性から脊椎動物寄生性への寄生性進化

5-4-1 では Spirurina 亜目のなかで Oxyuridomorpha 下目が最も原始的であり、最初に派生したグループであると考察した。Oxyuridomorpha 下目は卵の状態で感染する単純な生活環を持つことが知られ、ゴキブリ寄生性線虫では宿主体外で卵内発生を進めることで、感染態に成長することが知られている (石橋 2003; Ozawa et al., 2016; Ozawa & Hasegawa, 2018)。一方、Rhigonematomorpha 下目では宿主体外で卵から孵化することが観察されており、感染態が卵か幼虫かという点で明確に異なる (Hunt,

1996b)。

脊椎動物を終宿主とする他の線虫グループの場合、Heterakoidea 上科線虫は幼虫まで発生した卵を終宿主が直接摂取することでも感染するが、今回のヤスデ寄生性線虫の調査で *M. japonica* が分離できたように、待機宿主としてヤスデやミズを利用することが知られ、ニワトリ、ネズミ、トカゲ、カエルなどに寄生する (Saitoh, 1992; Lund et al., 1966; Saitoh et al., 1993; Purwaningsih et al., 2015; Sata, 2018)。Cosmocercidae 科は感染態幼虫が直接排出され、終宿主へ能動的に侵入することが知られており、両生類や有肺類 (カタツムリやナメクジ) に寄生する (Kirillova & Kirillov, 2021; Chabaud & Brygoo, 1958; Anderson, 1960)。Ascaridomorpha 下目では、原始的な Heterocheilidae 科は卵から孵化した幼虫が待機宿主のカイアシ類を介して中間宿主の魚に摂取され、爬虫類や海牛類に寄生する (Mahmoud, 1999; Li et al., 2018)。ほかの海生グループは孵化幼虫が中間宿主のオキアミに摂取されることで感染し、待機宿主の魚やイカを介して、あるいは介さずに終宿主の硬骨魚類、サメ、エイ、クジラ、鰭脚類などに寄生する (Roca Geronès et al., 2018; Li et al., 2018)。一方、陸生グループは待機宿主としてネズミを利用する、母乳を介して幼虫が母子感染するなどの例もあるが、卵の中で感染態に成長して経口感染することで哺乳類に寄生し、小腸から肺へ移動して成長、小腸に戻って成熟するという複雑な生活環で知られる (Sprent, 1956; Coati et al., 2004; Asaolu et al., 2002)。Gnathostomatomorpha 下目の Gnathostomatoidea 上科は孵化した幼虫が中間宿主のカイアシ類に摂取され、第二の中間宿主あるいは待機宿主の魚、両生類、ヘビなどを介してイタチやカメなどに寄生する (Ando et al., 1992; Hedrick, 1935)、Seuratoidea 上科では卵が孵化せずに中間宿主のゴカイ類に摂取されて感染、孵化幼虫や孵化しない卵を中間宿主の巻貝に摂取させると感染、孵化した幼虫が特定の魚を中間宿主に感染と様々であり、魚類に寄生する (Køie, 2000; Choudhury & Cole, 2019; Shears & Kennedy, 2005)。Camallanomorpha 下目は卵胎生の親が直接宿主体外に放出した幼虫が中間宿主のカイアシ類に摂取されて感染することで共通し、Cmallanoidea 上科や Philometridae 科は魚類に、Dracunculidae 科は哺乳類や爬虫類に寄生する (Stromberg & Crites, 1974; Cleveland et al., 2018; Ogawa et al., 2023)。Spiruromorpha 下目では、淡水生グループは卵のまま中間宿主の貝虫類やカワゲラ幼

虫に摂取され、魚や水鳥に寄生する(Moravec & Scholz, 1994; Moravec & Huffman, 2001)。陸生グループは卵のまま糞便と共に中間宿主の糞虫などに摂取され、哺乳類に寄生する(Schell, 1952; Petri, 1950; Mowlavi et al., 2009, Kudo et al., 2003; Rojas et al., 2017)。哺乳類の眼球上に寄生する *Thelazia* 属は涙液中の幼虫が涙液を摂取するハエを中間宿主として感染し、ハエの吸汁に合わせて口吻から脱出することで宿主眼球に寄生する(Wang et al., 2022; Otranto et al., 2005)。フィラリア (Filarioidea 上科) は胎生の成虫が血中に放出した幼虫(ミクロフィラリア)を中間宿主の吸血昆虫やダニが摂取し、吸血時に口吻から脱出して四足動物宿主に感染する(Mäser, 2022)。以上をまとめると、水生の線虫種は必ず中間宿主を必要としており、4 下目全てに甲殻類の中間宿主が存在した(Table 5-1)。なかでもカイアシ類は Camallanomorpha 下目と Gnathostomatoidea 上科の中間宿主であり、Ascaridomorpha 下目で最も原始的な Heterocheilidae 科では中間宿主の魚へとたどり着くための待機宿主である(Table 5-1)。このことから、脊椎動物を終宿主とする Oxyuroidea 上科以外の Spirurina 亜目線虫においてカイアシ類を終宿主への感染経路に利用することは、共有原始形質(あるグループにおいて 2 つ以上の単系統群に共有されているが、一部の単系統群では失われた祖先的な形質)であると考えた(Figure 5-4B)。

カイアシ類は海洋や淡水域で動物プランクトンのバイオマスの大部分を占める一次消費者であり、食物連鎖の重要な構成要素である(Abo-Taleb et al., 2020; Reid & Williamson, 2010)。海洋生態系ではオキアミもまたバイオマスの大部分を占める一次消費者であり、多くの食物連鎖における中心的な構成要素である(Tremblay, 2020)。これらを中間宿主(待機宿主)として利用する線虫は、どのグループでも幼虫の状態で捕食されることにより感染が成立し、カイアシ類は自由生活性線虫の捕食者であることが実験的に確かめられている(Muschiol et al., 2008)。従って、一次消費者であるカイアシ類やオキアミは、大量に増えては大量に捕食されることで上位の消費者の餌としての重要な役割を持ち、より小さい一次消費者である自由生活性線虫の捕食者でもあることから、寄生性線虫の感染経路として重要であると考えられる。

このことから、Rhigonematomorpha 下目のように宿主体外で卵から孵化するヤスデ寄生性線虫の感染態幼虫であれば、卵や幼虫が雨や洪水で河川や湖沼に流される

ことで淡水生カイアシ類に捕食される機会があったと考えることができる。Oxyuridomorpha 下目は卵から孵化することなく感染する生態を獲得したため淡水生カイアシ類に捕食されなかったが、Oxyuridomorpha 下目以外の Spirurina 亜目の共通祖先は頑丈な感染態幼虫によりヤスデに摂食されても生存する生態を獲得したため淡水生カイアシ類にしばしば捕食され、偶然生き延びたものが食物連鎖を介して脊椎動物に感染するようになったと考えた (Figure 5-4B)。

淡水生カイアシ類を介して感染する脊椎動物が淡水魚のような水生動物であった場合、腸内に寄生する寄生性線虫の卵は糞と共に水中に放出されるため、孵化した後にまた淡水生カイアシ類を介して同様の脊椎動物宿主に感染することが可能である。このような生活環を繰り返すうちに淡水生カイアシ類を中間宿主として利用するように進化したのだと考えられる。Camallanomorpha 下目と Spiruromorpha 下目のクラスター、Gnathostomatomorpha 下目の 2 つはこれに該当すると考えた。一方、Ascaridomorpha 下目は最も原始的な Heterocheilidae 科がカイアシ類を中間宿主にせず待機宿主として利用し、Anisakidae 科や Raphidascaididae 科がカイアシ類ではなくオキアミを中間宿主にしているため、これらに見られる中間宿主を利用する形質は海洋で独自に進化したものであり、Gnathostomatomorpha 下目や Camallanomorpha 下目とは起源を異にすると考えた (Figure 5-4D)。また、中間宿主を利用しない Rhigonematomorpha 下目の姉妹群であることから、これらの共通祖先は中間宿主を利用する形質を獲得する前の初期の状態であったと考えられる。そのため、今回の系統解析では分岐の順番が不明瞭であったこれら 3 クレードであるが、Camallanomorpha 下目と Spiruromorpha 下目のクレード、Gnathostomatomorpha 下目の 2 クレードは姉妹群であり、カイアシ類を中間宿主として利用する形質はこれらの共有原始形質であると考えられる (Figure 5-4B)。

淡水生カイアシ類を介して感染する脊椎動物が陸生動物であった場合、寄生性線虫の卵は糞と共に宿主の生息地付近に放出されるため、そこが森林土壌であればヤスデに戻ることが可能であると考えられる。Rhigonematomorpha 下目線虫はこのようにして脊椎動物を宿主にする祖先からヤスデ寄生性に回帰したと考えた (Figure 5-4D)。Rhigonematomorpha 下目とクラスター化する Heterakoidea 上科と Cosmocercidae 科は

両生類寄生性で共通するため、Rhigonematomorpha 下目線虫の祖先は淡水生カイアシ類か淡水魚を捕食した両生類に寄生して上陸し、その糞を食べるヤスデとヤスデを捕食する両生類を宿主にそれぞれのグループへ進化したと考えられる。ヤスデ寄生性に回帰したものが Rhigonematoidea 上科と Ransomnematoidae 上科、ヤスデを待機宿主として両生類を終宿主とする生活環に進化したものが Heterakoidea 上科、待機宿主を利用せずとも感染態幼虫が自力で両生類に感染する生活環に進化したものが Cosmocercidae 科だと考えた (Figure 5-4D)。

5-4-3. 脊椎動物寄生線虫の寄生性進化

脊椎動物を宿主とする Oxyuroidea 上科以外の Spirurina 亜目、Ascaridomorpha 下目、Gnathostomatomorpha 下目、Camallanomorpha 下目、Spiruromorpha 下目は全てカイアシ類を終宿主への感染に利用する水生の線虫に起源することを 5-4-2 で考察した。初期の段階で上陸したと考えられる Rhigonematomorpha 下目では、直接的な生活環を持つ陸上動物の寄生性線虫や、Oxyuridomorpha 下目に近い単純な生活環を持つヤスデ寄生性線虫に進化したものの、ほかのグループは水生の線虫として中間宿主に頼った生活環を発達させてきたことが系統樹から示唆された (Table 5-1, Figure 5-4D, Figure 5-4E)。

Ascaridomorpha 下目は待機宿主のカイアシ類を介して中間宿主の魚に感染する Heterocheilidae 科が最も原始的であり、オキアミを中間宿主に硬骨魚類やクジラに寄生する生活環を持ち Rhaphidascaididae 科や Anisakidae 科、サメやエイに寄生する Acanthocheilidae 科から陸生の Toxocaridae 科や Ascarididae 科が誕生したことを示す系統樹が報告されている (Li et al., 2018) (Figure 5-4D)。これらの陸生グループは待機宿主のみを利用して直接的に終宿主に感染する生活環で Rhigonematomorpha 下目の Heterakoidea 上科と共通するが、腸内の寄生虫であるにもかかわらず腸内に感染した幼虫が一度肺に移動して成長し、気道経由で腸に戻って成熟するという回りくどい生活環を持つことで明確に異なる (Sprent, 1956; Coati et al., 2004; Asaolu et al., 2002)。このことから、この性質は中間宿主の形質を獲得する前に上陸した Rhigonematomorpha 下目とは異なり、中間宿主の形質を獲得してから上陸したことに

より生じたもので、中間宿主を利用していた祖先の名残で終宿主の体内で移動を行うようになったと考えた (Figure 5-4D)。

Gnathostomatomorpha 下目と Camallanomorpha 下目はカイアシ類を中間宿主に脊椎動物の宿主に寄生することで共通し、Camallanomorpha 下目は硬骨魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳類の全てを宿主にし、Gnathostomatomorpha 下目では硬骨魚類、エイ、サメ、両生類、爬虫類、哺乳類を宿主にする (Virgilio et al., 2023; Moravec & Justine, 2021; Sokolov & Gordeev, 2021; Li et al., 2014; Agustin et al., 2017; Hedrick, 1935; Ando et al., 1992) (Table 5-1)。どちらも海生や淡水生から陸生まで幅広い脊椎動物を宿主として利用しており、カイアシ類と食物連鎖を介して多様化したグループだと考えた。一方、Gnathostomatomorpha 下目の Seuratoidea 上科では Cucullanidae 科は卵を摂取したゴカイ、卵や孵化幼虫を摂取した巻貝を中間宿主に、Quimperiidae 科は孵化幼虫を摂取したヒメハヤを中間宿主として魚類に寄生する生活環の報告があり、グループによって中間宿主の利用形態が全く異なっていた (Køie, 2000; Choudhury & Cole, 2019; Shears & Kennedy, 2005)。そのため、中間宿主として様々な動物を利用できるように多様化したのだと考えた (Figure 5-4E)。

Spiruromorpha 下目は今回の系統解析により系統関係を構築した範囲では、宿主糞便を摂取する糞虫を中間宿主として哺乳類宿主に寄生する陸生グループから、眼球上に寄生して涙液を摂取するハエを中間宿主とする *Thelazia* 属線虫、種によってリンパ管、皮膚や筋肉、体腔内などに寄生して血中に幼虫を放出し、吸血昆虫やダニを中間宿主にするフィラリアが誕生したことが示唆された (Mäser, 2022; Kausar, 2019) (Figure 5-4E)。Spiruromorpha 下目は Camallanomorpha 下目の姉妹群であり、卵を摂取した甲殻類や水生昆虫を中間宿主に水鳥や魚類に感染する淡水生線虫が存在するため、Seuratoidea 上科のようにカイアシ類以外を中間宿主にすることで卵から孵化しなくなった祖先が陸生動物に感染することで、糞を摂取する昆虫を中間宿主に陸上で完結する生活環に進化したのだと考えた (Table 5-1)。

フィラリアと *Thelazia* 属線虫はハエ目昆虫の利用という共通点があり、ハエ目には哺乳類の糞便の餌に発生し、吸血を行うものも存在する (Dillmann et al., 2021)。そのため、このようなハエが糞便と共に線虫卵を摂取して感染したうえで吸血すること、あ

るいは糞便で発生する普通のハエが線虫卵を摂取して涙液を摂取することにより、腸内以外の寄生部位に適応する機会を得たと考えた。ハエの摂食行動に関連する部位に寄生して次世代を産めば、再度ハエに感染する機会があることから、このような経緯を経てメマトイや吸血昆虫に依存した寄生性線虫に進化したのだと考えられる (Figure 5-4E)。

これらのグループは Spirurina 亜目におけるヒトの病原体として問題となる線虫のほとんどを内包しており、Ascaridomorpha 下目の水生線虫はアニサキス *Anisakis* spp., に代表されるように中間宿主や待機宿主となる甲殻類やイカ、あらゆる硬骨魚類を生食することでヒトに感染し、胃壁や腸壁への侵入やアレルギーによる激痛をもたらすアニサキス症の病原体となる (Adroher-Auroux & Benítez-Rodríguez, 2020)。Gnathostomatomorpha 下目では魚、カエル、ヘビなどの生食、あるいは感染カイアシ類を含む飲み水により顎口虫 *Gnathostoma* spp. に感染する顎口虫症が問題となり、顎口虫はヒトを待機宿主として感染し、体内を迷走して炎症やアレルギーを引き起こし最悪の場合臓器を損傷して死に至らしめる (Liu et al., 2020)。Camallanomorpha 下目は主に魚類を宿主にする水生線虫だが、Dracunculidae 科は飲み水を介してカイアシを摂取した陸上動物に感染し、なかでもギニアワーム (メジナ虫) として知られる *Dracunculus medinensis* (Linnaeus, 1758) は、ヒトに感染して痛みを伴い衰弱させる熱帯病メジナ虫症の病原体である (Cleveland et al., 2018; Cleveland et al., 2019)。

一方、Ascaridomorpha 下目と Spiruromorpha 下目の陸上で完結する生活環に進化したグループは、回虫 *Ascaris lumbricoides* (Linnaeus, 1758) や食道虫 *Gongylonema* spp. など糞便のなかで孵化せず待機して宿主に摂取される感染サイクルを持ち、人畜共通感染症として問題になる場合がある (Asaolu et al., 2002; Xiaodan et al., 2018; Laidoudi et al., 2020; Ziegler & Macpherson, 2019)。より高度な生活環を発達させたものでは、日本を含む東アジアなどで問題となる眼球上の寄生虫、東洋眼虫 *Thelazia callipaeda* (Railliet & Henry, 1910) は涙液を摂取するハエ (メマトイ) を中間宿主に利用し、口吻に移動して次の摂食時に脱出することで別の宿主にたどり着き、流涙症、結膜炎、角膜炎、角膜潰瘍などを伴う東洋眼虫症を引き起こす (Wang et al., 2022; Otranto et al., 2005)。フィラリアも吸血昆虫やダニを中間宿主として血液を起点に同様

の生活環を持つ(Mäser, 2022)。フィラリアが引き起こすフィラリア症は寄生虫症として最も衰弱性の高い命を脅かす熱帯病であり、世界 81 カ国で約 1 億 2000 万人が感染し、流行地に住む約 13 億 4000 万人がリスクにさらされている(Kausar, 2019)。

これらのうち、回虫の感染症(回虫症)を含む土壌伝播寄生虫症、いくつかのフィラリア症、メジナ虫症は世界保健機関が定める「顧みられない熱帯病」(Neglected Tropical Diseases, NTDs)に含まれ、ほかの NTDs と共に熱帯の貧困地域を中心に蔓延して経済活動や社会生活に支障をきたす重度の身体障害を人々にもたらし、ときに死に至らしめることで開発途上国などの経済成長を妨げる重大な社会課題のひとつである(World Health Organization, 2010)。そのため、これらの寄生性線虫がなぜヒトの病原体として猛威を振るっているのかを理解して対策を行うために、今回の系統解析により得られたこれらの寄生性線虫の寄生性進化の知見は重要なものであるといえる。

5-4-4. 宿主特異性の寄生性進化

Oxyuridomorpha 下目では、脊椎動物を宿主とする Oxyuridae 科線虫には致命的な宿主特異性があることが示唆されている(Murata et al., 2002)。このような生理学的な宿主特異性はウイルスでも知られており、例えば、世界保健機関が指定したパンデミックの懸念対象となる 10 種類のウイルス群のうちの3つ、ヘニパウイルス属 *Henipavirus*、フィロウイルス科 *Filoviridae*、コロナウイルス(オルトコロナウイルス亜科) *Orthocoronavirinae* は本来の宿主であるコウモリには全く無害だが、ヒトにスピルオーバーすることで重篤な疾患を引き起こすことが知られ、SARS、MARS、COVID-19 などのパンデミックや広範囲での流行を引き起こした(Ruiz-Aravena et al., 2022)。コウモリとウイルスの共生関係は完全には解明されていないが、コウモリには多くの抗ウイルス免疫防御機構が知られており、コウモリのウイルスにはコウモリでのみ機能する増殖を制御する遺伝子が存在することが報告されている(Nouda, 2022)。

一方、Thelastomatoidea 上科線虫はそのような生理学的な宿主特異性が確認できず、広い宿主範囲に感染可能である(Ozawa et al., 2016; Ozawa & Hasegawa, 2018)。野外調査でも Thelastomatidae 科線虫が宿主を共有していることが報告され、これらの

宿主特異性は宿主の生態によるものだと示唆されている(Jex et al., 2006ab, 2007)。今回の系統解析では Thelastomatoidea 上科から Oxyuroidea 上科が誕生したことが示された(Figure 5-3)。このことから、宿主特異性が低い Thelastomatoidea 上科線虫は宿主を渡り次ぐことで多様化を促進した原始的なグループであり、そこから高度な宿主特異性を発達させた Oxyuridae 科は特定の宿主に特化することで運命共同体となり、高度に共進化しているのだと考えられる。このような宿主特異性の進化を理解することにより、パンデミックの発生メカニズムの解明と発生予防に貢献することが期待できる。そこで、今回の系統解析の結果を基に Thelastomatoidea 上科から Oxyuridae 科までの寄生性線虫の宿主特異性や宿主の生理学的特徴について、進化の道筋に沿って考察した。

Oxyuridomorpha 下目の生活環は全体的に共通しており、哺乳類に寄生する蟯虫では肛門に産み付けた卵が毛づくろいなどで経口感染し、ゴキブリ寄生性線虫では糞と共に排泄された卵が食糞行動で経口摂取される(石橋 2003; Ozawa et al., 2016; Ozawa & Hasegawa, 2018)。ヤスデを始めとする節足動物の分解者でも食糞行動は一般的であるとされており、Thelastomatoidea 上科線虫はヤスデとゴキブリ以外にケラ、ガムシ、クロツヤムシ、コガネムシ上科幼虫、ガガンボ幼虫というように分解者の宿主が多いことから、ゴキブリ以外にも同様の生活環を持つと考えられる(Culliney, 2013; Adamson, 1994)。ゴキブリ寄生性線虫グループから誕生した Pharyngodonidae 科では、宿主幼体が孵化直後に卵殻を舐める行動をとることで母子感染するという報告があり、宿主となる種の草食トカゲが腸内細菌叢の獲得のため食糞行動を行うことが報告されている(Goldberg & Bursey, 1992; Malysheva, 2016; Troyer, 1982) (Figure 5-3, Figure 5-4C)。また、トカゲは哺乳類と同じように総排泄腔を含めた体の毛づくろいを行うことや、糞便を舐めることが観察されている(Prieto & Ryan, 1978)。そのため、Pharyngonidae 科は Thelastomatoidea 上科線虫と同様に食糞行動を介して生活環を成立させているものの、Oxyuridae 科線虫のように毛づくろいを介した感染も可能であると考えた。また、卵鞘をエタノールで殺菌することで感染を防ぐことができるように、ゴキブリ寄生性線虫も孵化直後に卵鞘を舐めることで母子感染と言われている(Ozawa & Hasegawa, 2018; 小澤&長谷川, 私信)。そのため、トカゲ寄生性線虫は祖

先と最も近縁なゴキブリ寄生性線虫の特徴を色濃く残していると考えた。

Pharyngodonidae 科は Oxyuridae 科の側系統群であり、Thelastomatoidea 上科と同様に遺伝的距離が短い原始的な単系統群と、Oxyuridae 科と姉妹群で遺伝的距離も同様に極めて長い単系統群の 2 つに分かれた (Figure 5-3)。同所的に生息するこれらのグループを比較した研究では、前者のグループはトカゲやヘビなど様々な爬虫類を利用して地理的多型が小さく、後者のグループは特定の爬虫類のみを利用して地理的多型が大きく、宿主特異性に差があることが報告されている (Falk & Perkins, 2013)。そのため、Oxyuridae 科で見られる生理学的な宿主特異性は、トカゲを宿主に進化した Pharyngodonidae 科で獲得したものであると考えた (Figure 5-4C)。また、Pharyngodonidae 科の宿主であるトカゲは、宿主特異性の低い Thelastomatoidea 上科の生活環と、宿主特異性の高い Oxyuridae 科の生活環のどちらも成立する生態を持つため、糞便を介する生活環からより宿主特異性が高い毛づくろいを介する生活環へ進化したと考えた。そこで、Thelastomatoidea 上科の宿主である節足動物、Oxyuroidea 上科の宿主である爬虫類や哺乳類の間で寄生性線虫との相互作用にどのような差があるか考察した。

Oxyuridae 科線虫では哺乳類宿主の獲得免疫系 (特定の病原体を識別して記憶し、それと結合する抗体を作って不活性化・排除する免疫系) によって個体数が制御されていることを示す事例が報告されている (Michels et al., 2006)。Oxyuridomorpha 下目は腸内に広がる腸内細菌叢を餌とするが、ヒトの場合はその腸内細菌叢を含め病原体足りうる微生物が腸内から腸壁・腸外へ侵入して感染するため、免疫系によって制御を行っている (Magalhaes et al., 2007)。このことから、哺乳類の腸内細菌叢に生息する Oxyuridae 科線虫は免疫系による制御を受けており、それに抵抗する能力によって寄生を可能にしていると考えた。

脊椎動物は獲得免疫系を獲得したことで腸内細菌叢との共生が可能になったと言われており、免疫系の機構は顎口動物 (無顎類以外の脊椎動物) とそれ以外の動物で異なる (Maynard et al., 2012; Rimer et al., 2014)。節足動物では腸管内腔の表面に囲食膜というキチン質のバリア構造を持ち、これが腸内細菌叢による侵入・感染に対する免疫機構を担っている (Nakashima et al., 2018)。このバリア構造は脊索動物にも

存在するが、少なくとも哺乳類には存在しない(Nakashima et al., 2018)。このことから、節足動物では腸内細菌叢や寄生性線虫に免疫系による制御を行っていないと考えられ、獲得免疫系による寄生性線虫への生理学的な抑制作用とそれに対する寄生性線虫の抵抗性が宿主特異性を生じさせたと考えた。

今回の系統解析の結果では、宿主特異性の高いグループは遺伝的距離が大きく、遺伝的な差が生じやすいことが示しており、Oxyuridae 科ではネズミ目やサル目の宿主との共進化が知られている(Robles & Navone, 2010; Hugot et al., 1999) (Figure 5-3)。そのため、別の宿主に寄生する近縁種や別系統の同種と生殖隔離することで突然変異が固定されやすくなり、種分化が加速したと考えられる。また、*Xeroxyuris* 属と *Rodentoxyuris* 亜属(*Trypanoxyuris* 属)はサル目からリスへと宿主を変えた蟯虫として知られる(Hugot et al., 1999)。このことから、宿主特異性は必ずしも本来とは異なる宿主に病原性を発揮するものではなく、新しい宿主との間で免疫抑制と抵抗性のバランスが上手くかみ合えば寄生が成立すると考えられる。背景でも述べたヒト蟯虫がチンパンジーに致命的な病原性を発揮した宿主特異性の事例では、寄生部位である盲腸への重度な炎症と多数の線虫の寄生、これらの線虫への自然免疫(免疫にかかわる細胞が異物を認識して直接攻撃・排除すること)による攻撃、肝臓やその血管への線虫の迷入が観察されている(Murata et al., 2002)。これについては、過剰な抑制を受けた線虫の一部が攻撃を逃れるために迷入して臓器を損傷し、宿主の衰弱後に線虫が大量に寄生した。あるいは、十分な抑制を受けなかった線虫が大量に寄生して餌の腸内細菌叢が不足し、餌を求めて迷入することにより臓器を損傷した可能性を考えられる。以上のことから、Oxyuridomorpha 下目の宿主特異性は脊椎動物宿主に特有の腸管内への免疫抑制に対する抵抗性を獲得したことにより生じたものであり、寄生性線虫と宿主の間で抑制と抵抗のバランスを保ちながら進化することで固有の対応関係を持つようになったと考えた。そのため、これらの寄生性線虫はコウモリのウイルスと同様の宿主特異性メカニズムを持っていると考えられる。従って、Oxyuridomorpha 下目、特に Pharyngonidae 科はこの宿主特異性メカニズムを獲得した寄生性進化の詳細を保存しており、ウイルスから線虫までに共通する生態学的な宿主特異性について研究するうえで非常に重要な研究対象であると考えた。

5-5. 表 (Table 5-1)

Table 5-1 Spirurina 亜目のグループごとの寄生性

グループ		最初の感染形態	中間宿主	待機宿主	終宿主
Oxyuridomorpha 下目	Thelastomatoidea 上科	卵	-	-	節足動物
	Pharyngodonidae 科	卵	-	-	トカゲ・ヘビ
	Oxyuridae 科	卵	-	-	哺乳類
Rhigonematomorpha 下目	Rhigonematoidea 上科	幼虫	-	-	ヤスデ
	Ransomnematoidae 上科	幼虫	-	-	ヤスデ
	Heterakoidea 上科	卵	-	ヤスデ・ミミズ	四足動物
	Cosmocercidae 科	幼虫	-	-	両生類・有肺類
Ascaridomorpha 下目	Heterocheilidae 科	幼虫	魚類	カイアシ類 (中間宿主より先に利用)	爬虫類・ジュゴン
	Raphidascarididae 科	幼虫	オキアミ	魚類・イカ	硬骨魚類
	Anisakidae 科	幼虫	オキアミ	魚類・イカ	クジラ・鰭脚類
	Acanthocheilidae 科	不明	不明	不明	サメ・エイ
	Toxocaridae 科	卵	-	ネズミ	哺乳類
	Ascarididae 科	卵	-	-	哺乳類
Gnathostomatomorpha 下目	Gnathostomatoidea 上科	幼虫	カイアシ類	脊椎動物	脊椎動物
	Seuratoidea 上科	種による	多毛類・巻貝・魚類	-	魚類
Camallanomorpha 下目	Camallanoidea 上科	幼虫	カイアシ類	-	魚類
	Dracunculoidea 上科	幼虫	カイアシ類	-	脊椎動物
Spiruromorpha 下目	Acuariidae 科	卵	貝虫類	魚類	水鳥
	Rhabdochonidae 科	卵	水生昆虫	-	魚類
	Physalopteridae 科	卵	糞虫	-	哺乳類
	Gongylonematidae 科	卵	糞虫	-	哺乳類
	Thelaziidae 科	<i>Spirocerca</i> 属	卵	糞虫	哺乳類
		<i>Thelazia</i> 属	幼虫	メマトイ	哺乳類
	Filarioidea 上科	幼虫	吸血昆虫・ダニ	-	四足動物

この表は、Spirurina 亜目の各グループに見られる様々な寄生性を、寄生虫の生活環において利用する中間宿主、待機宿主、終宿主から示したものである。最初の感染形態は生まれてから最初に利用する宿主に感染するときの形態が卵か幼虫かを示す。中間宿主は寄生虫の生活環に必要な宿主であり、その体内で成熟段階の進行を伴う。一方、待機宿主は寄生虫の生活環に不要であり、その体内で成熟段階の進行を伴わ

ない。終宿主は寄生虫が成熟して次世代を生み出す場となる宿主である。生活環の中で中間宿主と待機宿主の両方を經由する寄生虫は、Heterocheilidae 科を除いて中間宿主から終宿主へ移動する過程で待機宿主を利用する。- は中間宿主あるいは待機宿主を利用しないことを示す。

5-6. 図 (Figure 5-1 ~ Figure 5-4)

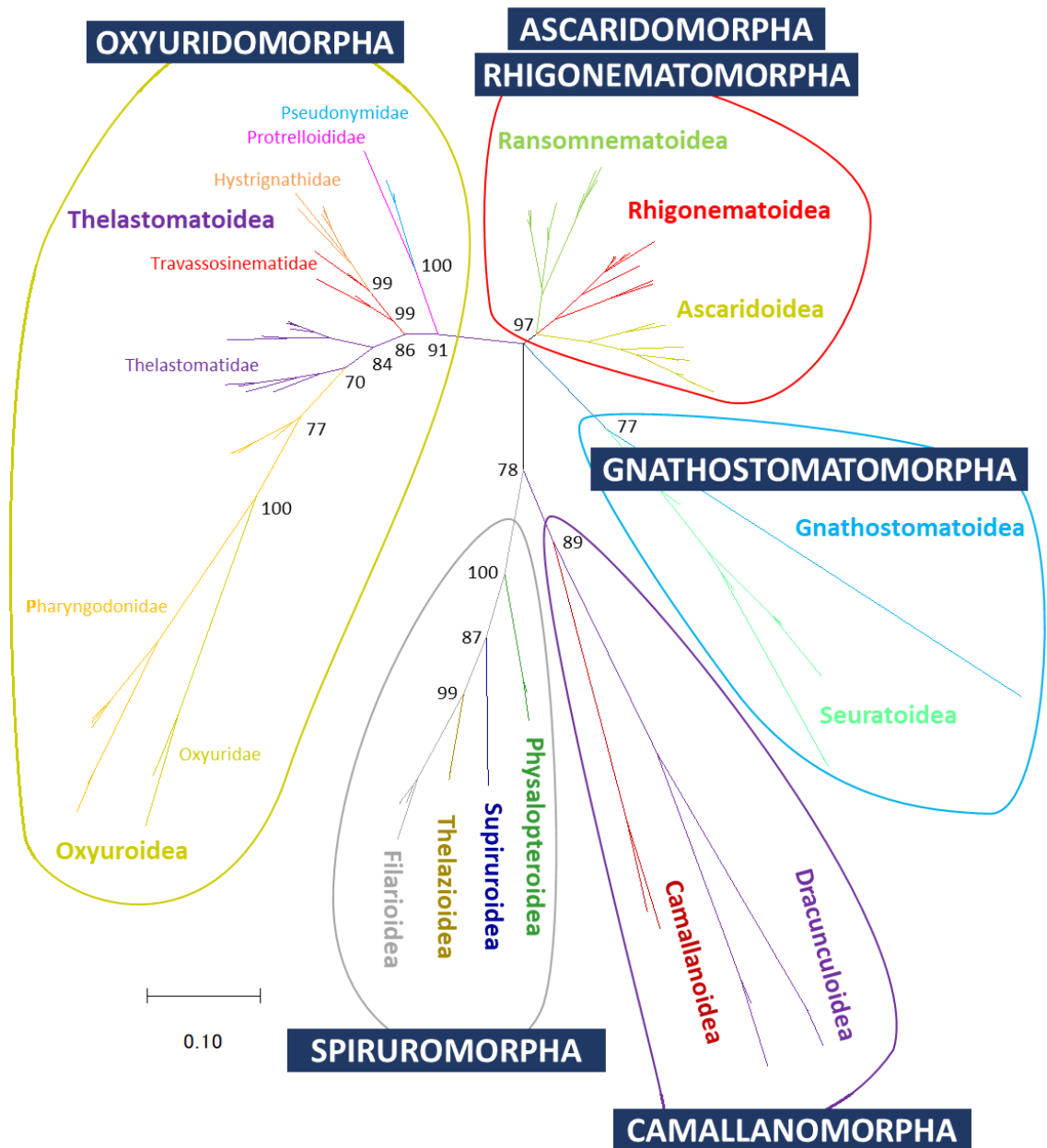


Figure 5-1. Spirurina 蛭目系統樹

18S リボソーム RNA 遺伝子 (649 bp) と 28S リボソーム RNA 遺伝子 D2/D3 領域 (544 bp) を組み合わせて最尤法 (maximum likelihood method) を用いて構築した。1000 反復のブートストラップによって決定された信頼度 (%) を主要な分岐点の横に示した。

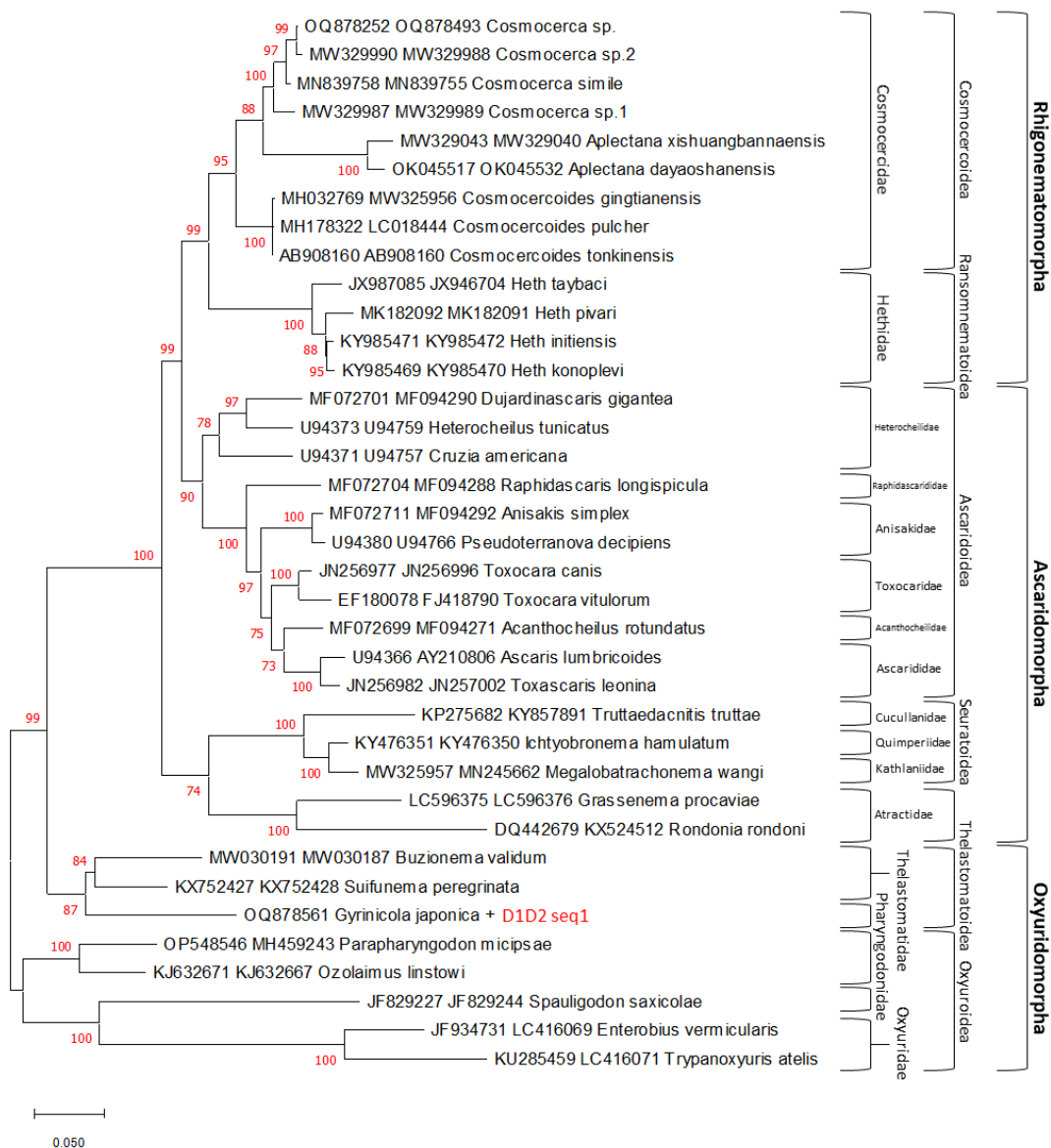


Figure 5-2. Ascaridomorpha 下目系統樹

18S リボソーム RNA 遺伝子 (811 bp) と 28S リボソーム RNA 遺伝子 D1/D2 領域 (639 bp) を組み合わせて最尤法 (maximum likelihood method) を用いて構築した。1000 反復のブートストラップによって決定された信頼度 (%) を分岐点の横に示した。本研究で新たに取得したシーケンス (詳細については以下に記載) を赤で示した。

D1D2 seq1_春日井市 (中部大学応用生物学部実習農場田んぼ) ヌマガエル *Fejervarya kawamurai* オタマジャクシから分離

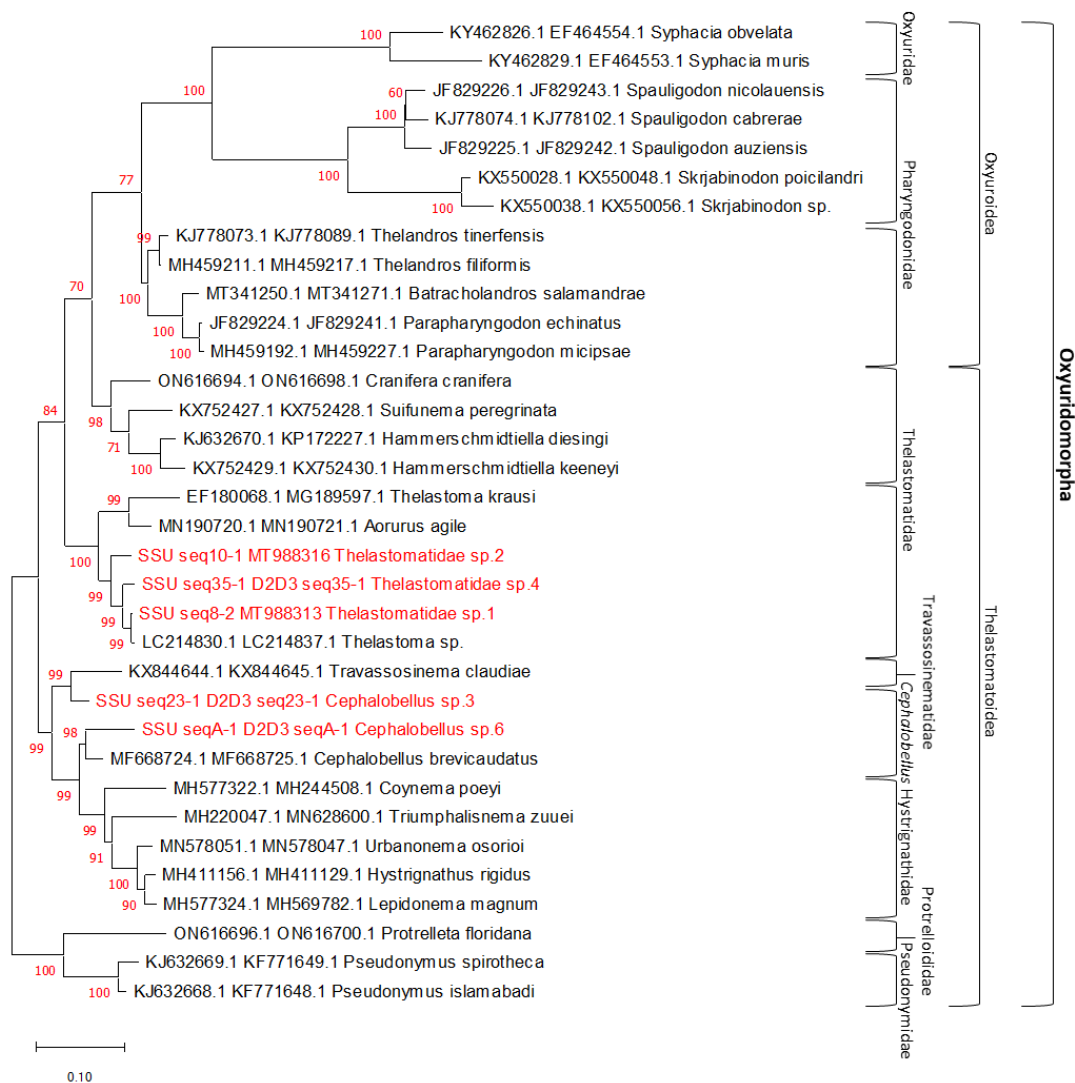


Figure 5-3. Oxyuridomorpha 下目系統樹

Figure 5-1 の系統樹の Oxyuridomorpha 下目の部分を抜粋したもの。1000 反復のブートストラップによって決定された信頼度(%)を分岐点の横に示した。本研究で新たに取得したシーケンス(詳細については以下に記載)を赤で示した。

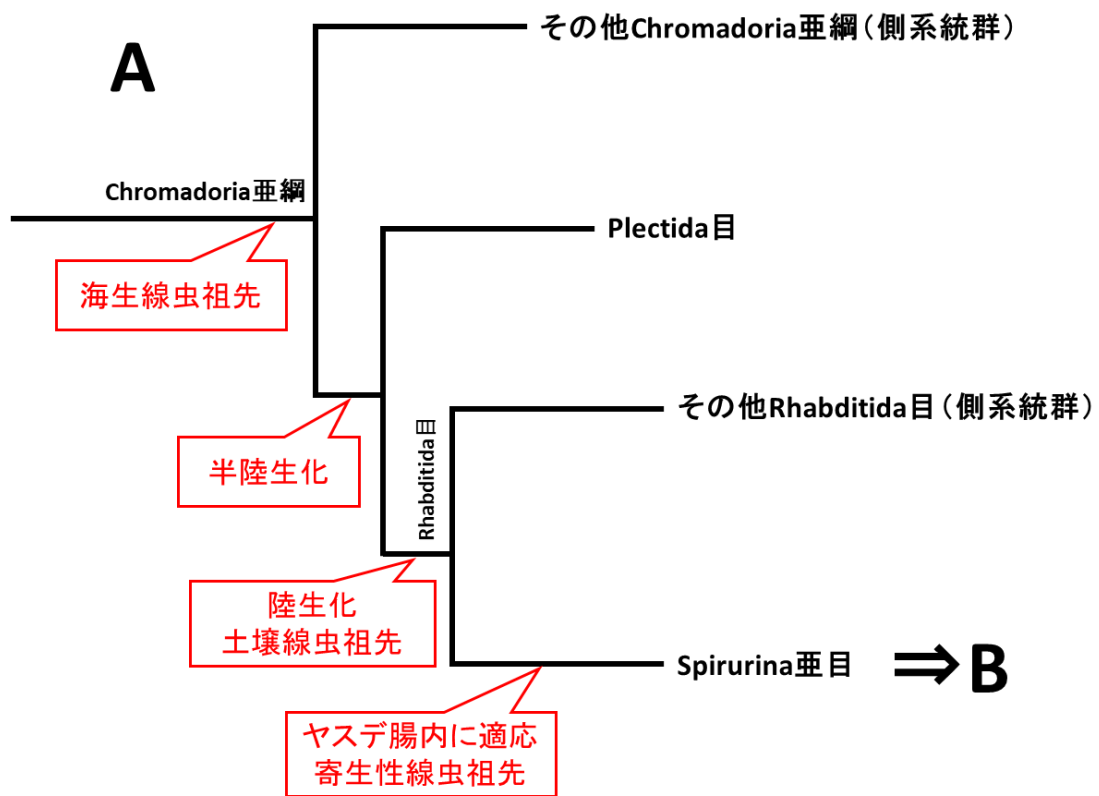
Seq8_山鹿市カマトゲアマビコヤスデ *R. cornuta* から分離

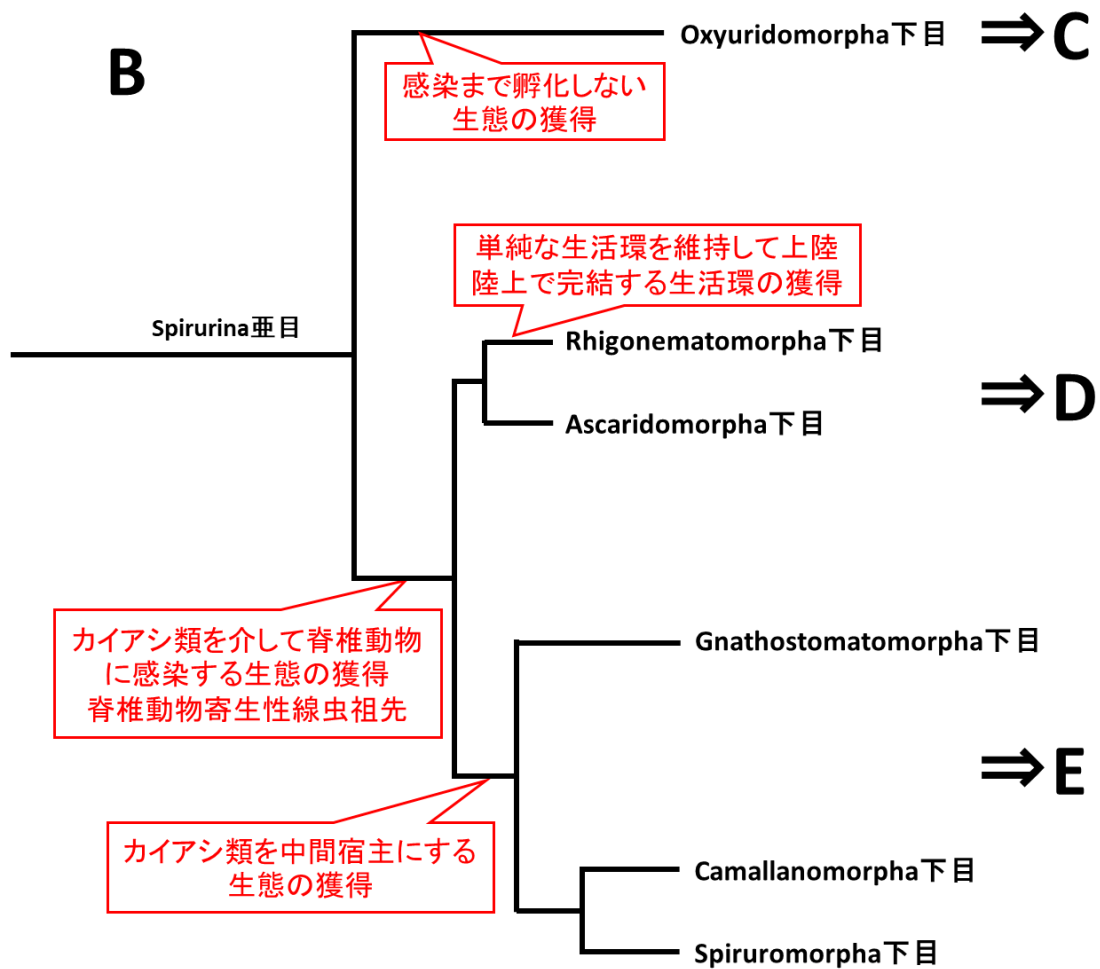
Seq10_鹿児島市宮之浦アマビコヤスデ *R. semicircularis* から分離

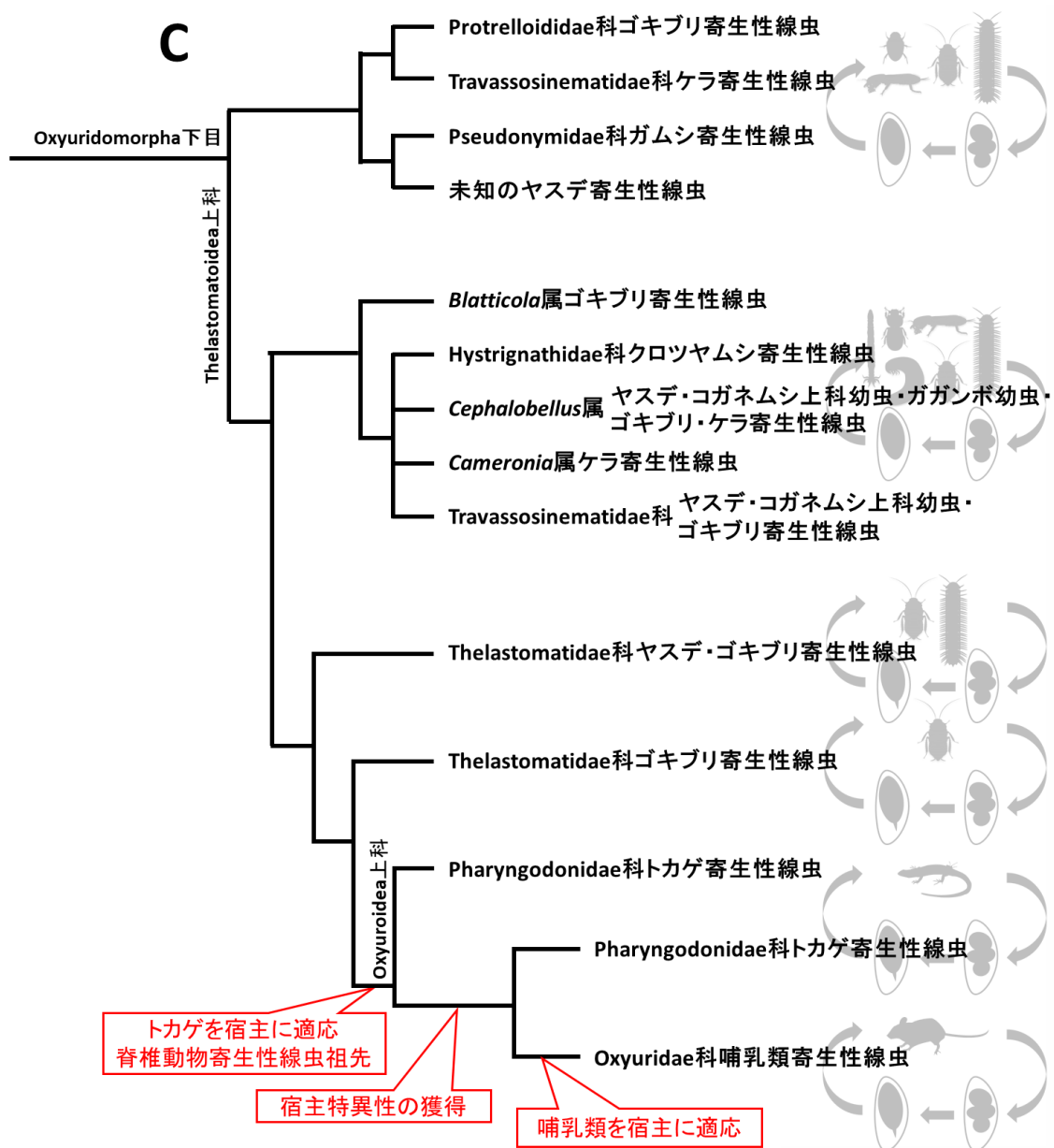
Seq23_鹿児島市宮之浦ヤンバルトサカヤスデ *C. hualienensis* (データは示していない) から分離

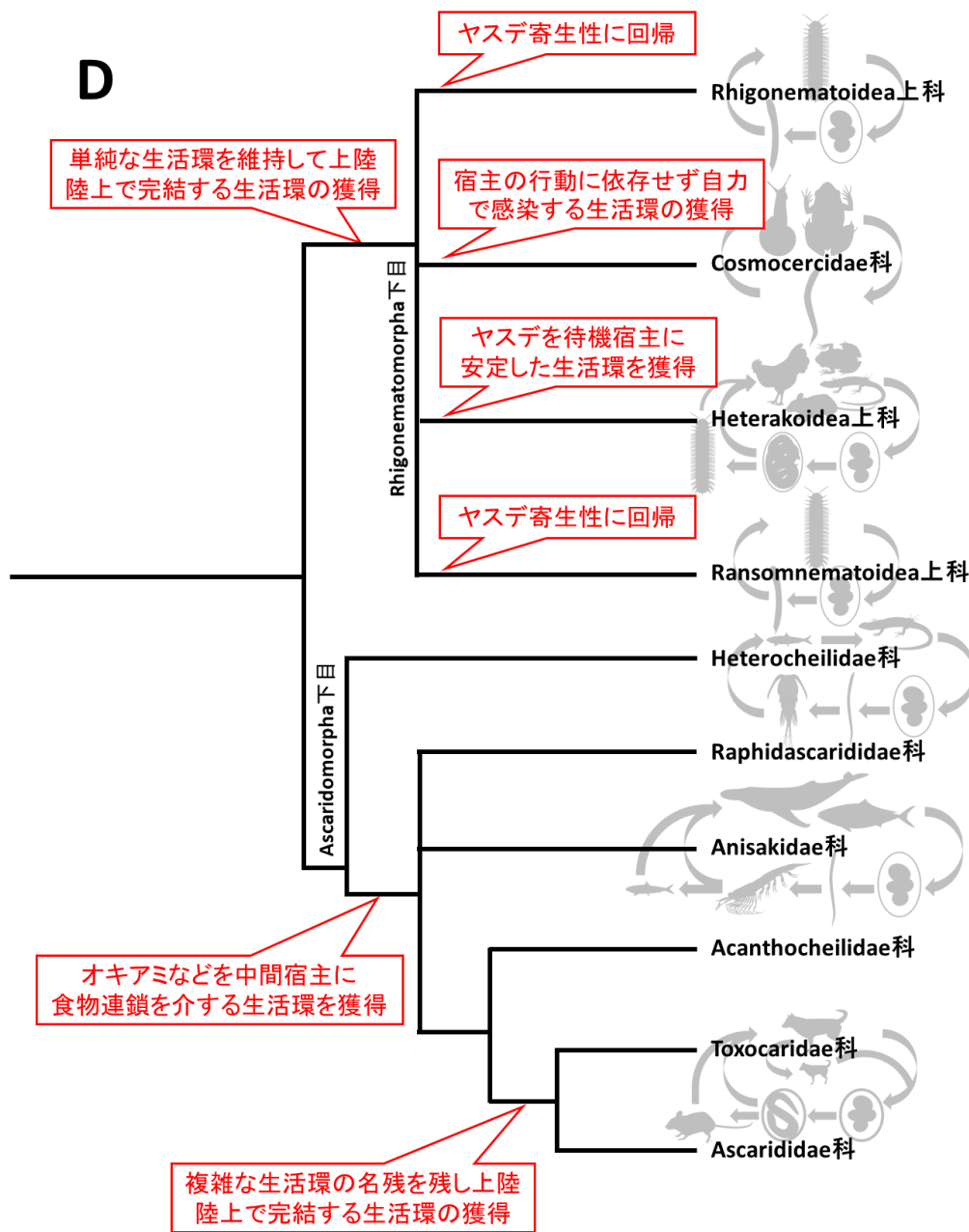
Seq35_西表島インガキミツヤスデ *C. uenoi* (データは示していない) から分離

SeqA_春日井市タマヤスデの一種 *Hyleoglomeris* sp. (データは示していない) から分離









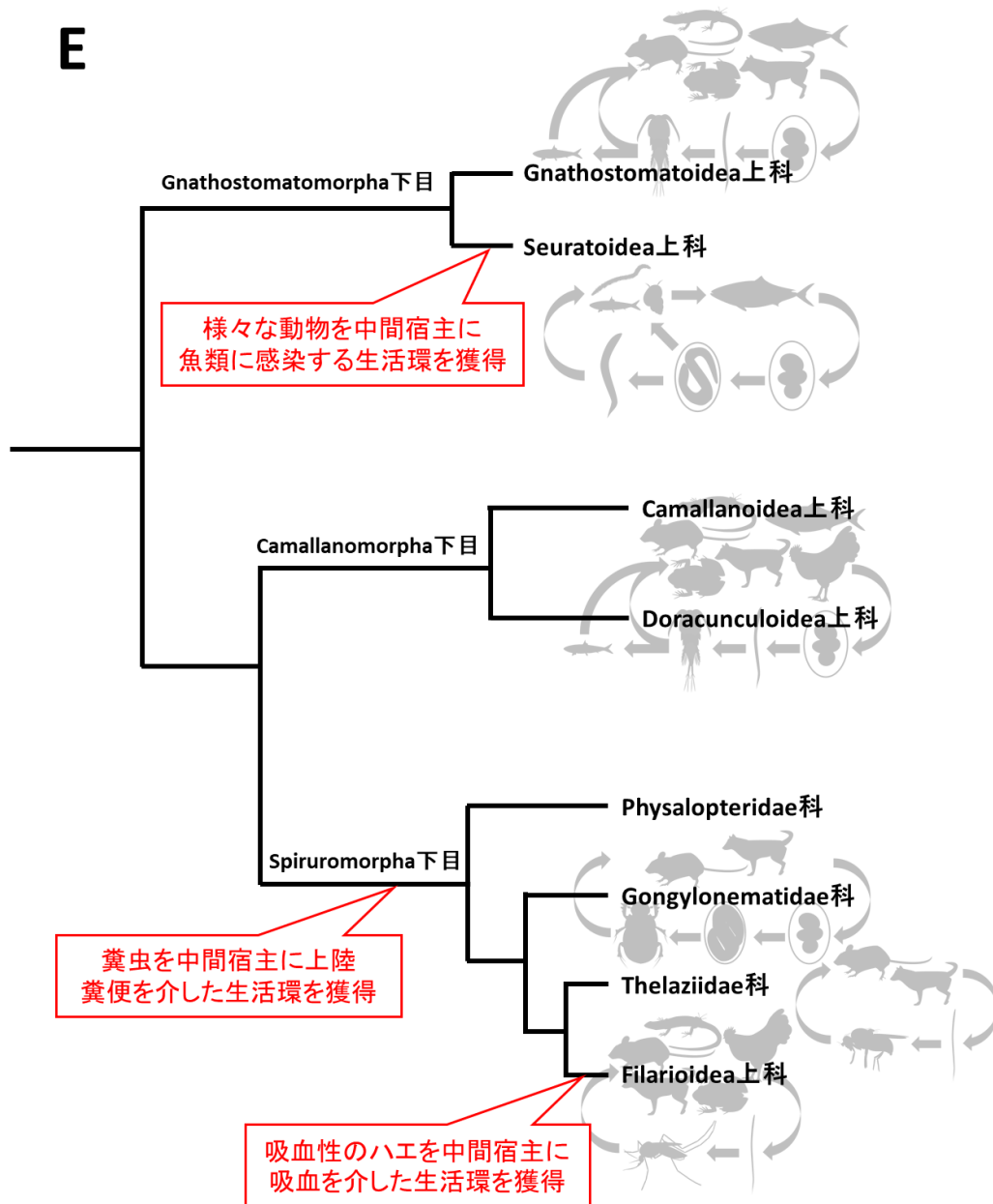


Figure 5-4. Spirurina 亜目の寄生性進化

(A) Blaxter & Koutsovoulos, 2015 の Figure 1 A を改変した Chromadria 亜綱の系統樹、(B) Figure 5-1 を改変した Spirurina 亜目の系統樹、(C) Figure 4-11 と Figure 5-3 を改変した Oxyuridomorpha 下目の系統樹、(D) Figure 3-11 を Li et al., 2018 の Figure 1 における Ascaridomorpha 下目の系統関係に合わせて改変した Rhigonematomorpha 下目と Ascaridomorpha 下目のクレードの系統樹、(E) Figure 5-1 を改変した Camallanomorpha 下目および Spiruromorpha 下目のクレード、Gnathostomatomorpha 下目の系統樹を基に、各グループの線虫から報告されている生態より考察した Spirurina 亜目における寄生性進化のイベントを示した。

引用文献

Abo-Taleb, H., Ashour, M., El-Shafei, A., Alataway, A., Maaty, M. M. (2020). Biodiversity of Calanoida Copepoda in different habitats of the North-Western red sea (Hurghada Shelf). *Water* 12, 656. DOI: 10.3390/w12030656

Adamson, M. (1994). Evolutionary patterns in life histories of Oxyurida. *International Journal for Parasitology* 24, 1167-1177. DOI: 10.1016/0020-7519(94)90189-9

Adroher-Auroux, F. J., Benítez-Rodríguez, R. (2020). Anisakiasis and *Anisakis*: An underdiagnosed emerging disease and its main etiological agents. *Research in veterinary science* 132, 535-545. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.08.003

Agustin, A. L. D., Koesdarto, S., Lukiswanto, B. S., Suwanti, L. T., Arifin, Z., Putranto, E. D. (2017). Morphological identification nematodes *Tanqua tiara* found on gastric *Varanus salvator* at East Java. *KnE Life Sciences*, 668-676. DOI: 10.18502/cls.v3i6.1196

Anderson, R. C. (1960). On the development and transmission of *Cosmocercoides dukae* of terrestrial Molluscs in Ontario. *Canadian Journal of Zoology* 38, 801–825. DOI: 10.1139/z60-084

Ando, K., Tokura, H., Matsuoka, H., Taylor, D., Chinzei, Y. (1992). Life cycle of *Gnathostoma nipponicum* Yamaguti, 1941. *Journal of Helminthology* 66, 53-61. DOI: 10.1017/S0022149X00012566

Asaolu, O. S., Ofoezie, O. E., Onyeji, O. C. (2002). *Ascaris lumbricoides* (Ascariasis). *Antimicrobial therapy and vaccines*. New York, Apple Trees Productions, LLC, 1447-1454.

Bhakat, S. (2020). A new species of *Travassosinema* (Oxyuridomorpha: Travassosinematidae) from an Indian millipede, *Trigoniulus corallinus* (Gervais). *bioRxiv*. 2020-08. DOI: 10.1101/2020.08.02.232728

Blaxter, M., Koutsovoulos, G. (2015). The evolution of parasitism in Nematoda.

Parasitology 142, 26-39. DOI: 10.1017/S0031182014000791

Brian, J. I., Aldridge, D. C. (2021). Abundance data applied to a novel model invertebrate host shed new light on parasite community assembly in nature. *Journal of Animal Ecology* 90, 1096-1108. DOI: 10.1111/1365-2656.13436

Buatois, L. A., Davies, N. S., Gibling, M. R., Krapovickas, V., Labandeira, C. C., MacNaughton, R. B., Mángano, M. G., Minter, N. J., Shillito, A. P. (2022). The invasion of the land in deep time: integrating Paleozoic records of paleobiology, ichnology, sedimentology, and geomorphology. *Integrative and Comparative Biology* 62, 297-331. DOI: doi.org/10.1093/icb/icac059

Capella-Gutiérrez, S., Silla-Martínez J. M., Gabaldón T. (2009). trimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses. *Bioinformatics Applications Note* 25, 1972–1973. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp348

Ceron-Noriega, A., Almeida, M. V., Levin, M., Butter, F. (2023). Nematode gene annotation by machine-learning-assisted proteotranscriptomics enables proteome-wide evolutionary analysis. *Genome Research* 33, 112-128. DOI: 10.1101/gr.277070.122

Chabaud, A. G., Brygoo, E. R. (1958). Description et cycle évolutif d'Aplectana courdurieri n.sp. (Nematoda, Cosraocercidae). *Memoires de l'Institut Scientifique de Madagascar* 12, 159-176.

Choudhury, A., Cole, R. A. (2019). Life cycle of the trout cecal nematode, *Truttaedacnitis truttae* (Nematoda: Cucullanidae): experimental and field observations. *Journal of Parasitology* 105, 769-782. DOI: 10.1645/18-22

Cleveland, C. A., Garrett, K. B., Cozad, R. A., Williams, B. M., Murray, M. H., Yabsley, M. J. (2018). The wild world of Guinea worms: a review of the genus *Dracunculus* in wildlife. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 7, 289-300. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2018.07.002

Cleveland, C. A., Eberhard, M. L., Thompson, A. T., Garrett, K. B., Swanepoel, L., Zirimwabagabo, H., Moundai, T., Ouakou, P. T., Ruiz-Tiben, E., Yabsley, M. J. (2019). A search for tiny dragons (*Dracunculus medinensis* third-stage larvae) in aquatic animals in Chad, Africa. *Scientific reports* 9, 375. DOI: 10.1038/s41598-018-37567-7

Coati, N., Schnieder, T., Epe, C. (2004). Vertical transmission of *Toxocara cati* Schrank 1788 (Anisakidae) in the cat. *Parasitology research* 92, 142-146. DOI: 10.1007/s00436-003-1019-y

Cook, G. C. (1994). *Enterobius vermicularis* infection. *Gut* 35, 1159-1162. DOI: 10.1136/gut.35.9.1159

Culliney, T. W. (2013). Role of arthropods in maintaining soil fertility. *Agriculture* 3, 629-659. DOI: 10.3390/agriculture3040629

Dallas, T. A., Laine, A. L., Ovaskainen, O. (2019). Detecting parasite associations within multi-species host and parasite communities. *Proceedings of the Royal Society B* 286, 20191109. DOI: 10.1098/rspb.2019.1109

Dillmann, J. B., Cossetin, L., dos Santos Petry, L., de Souza, T. P., Monteiro, S. G. (2021). An alternative protocol for rearing of stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. *International Journal of Tropical Insect Science*, 1-6. DOI: 10.1007/s42690-020-00422-2

Dunlop, J. A., Garwood, R. J. (2018). Terrestrial invertebrates in the Rhynie chert ecosystem. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 373, 20160493. DOI: 10.1098/rstb.2016.0493

Edgecombe, G. D. (2011). 18 Chilopoda—Fossil history. In *Treatise on Zoology-Anatomy, Taxonomy, Biology. The Myriapoda*. Volume 1 (pp. 355-361). Brill. DOI: 10.1163/9789004188266_019

Edgecombe, G. D., Strullu-Derrien, C., Góral, T., Hetherington, A. J., Thompson, C., Koch, M. (2020). Aquatic stem group myriapods close a gap between molecular divergence dates and the terrestrial fossil record. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117, 8966-8972. DOI: 10.1073/pnas.1920733117

Fabiyi, O. A., Bello, T. T., Liébanas, G., Clavero-Camacho, I., Cantalapiedra-Navarrete, C., Archidona-Yuste, A., Castillo, P. (2023). Anatomical and molecular characterization of some rhigonematid parasites of millipedes in Nigeria, with new insights into their phylogeny. *Journal of Helminthology* 97, e47. DOI: 10.1017/S0022149X23000275

Falk, B. G., Perkins, S. L. (2013). Host specificity shapes population structure of pinworm parasites in Caribbean reptiles. *Molecular Ecology* 22, 4576-4590. DOI: 10.1111/mec.12410

Fernández, R., Edgecombe, G. D., Giribet, G. (2018). Phylogenomics illuminates the backbone of the Myriapoda Tree of Life and reconciles morphological and molecular phylogenies. *Scientific Reports* 8, 83. DOI: 10.1038/s41598-017-18562-w

Goldberg, S. R., Bursey, C. R. (1992). Prevalence of the Nematode *Spauligodon giganticus* (Oxyurida: Pharyngodonidae) in Neonatal Yarrow's Spiny Lizards, *Sceloporus jarrovii* (Sauria: Iguanidae). *The Journal of Parasitology* 78, 539-541. DOI: 10.2307/3283664

Golovatch, S. I. ., Kime, R. D. (2009). Millipede (Diplopoda) distributions: A review. *Soil Organisms* 81, 565-597. Retrieved from [SOIL ORGANISMS \(soil-organisms.org\)](http://soil-organisms.org)

Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41, 95-98. Retrieved from <https://academic.oup.com/nass>

Hedrick, L. R. (1935). The life history and morphology of *Spiroxys contorta* (Rudolphi):

Nematoda: Spiruridae. *Transactions of the American Microscopical Society* 54, 307-335.
DOI: 10.2307/3222323

Hugot, J. P., Reinhard, K. J., Gardner, S. L., & Morand, S. (1999). Human enterobiasis in evolution: origin, specificity and transmission. *Parasite*. 6, 201-208. DOI: 10.1051/parasite/1999063201

Hugot, J. P., Gardner, S. L., Borba, V., Araujo, P., Leles, D., Stock Da-Rosa, Á. A., Dutra, J., Ferreira, L. F., Araújo, A. (2014). Discovery of a 240 million year old nematode parasite egg in a cynodont coprolite sheds light on the early origin of pinworms in vertebrates. *Parasites & Vectors* 7, 1-8. DOI: 10.1186/s13071-014-0486-6

Hunt, D. J. (1993). Two new species of *Travassosinema* Rao, 1958 (Nematoda: Travassosinematidae) from diplopods in Sulawesi and Papua New Guinea. *Afro-Asian Journal of Nematology*. 3, 196-200.

Retrieved from <https://repository.rothamsted.ac.uk/journal/801y4/afro-asian-journal-of-nematology>

Hunt, D. J. (1996a). *Travassosinema thyropygi* sp. n.(Nematoda: Travassosinematidae) from a spirobolid millipede from Vietnam with SEM observations on *Heth imias* Spiridonov, 1989 (Nematoda: Hethidae). *Fundamental and Applied Nematology* 19, 7-14.

Hunt, D. J. (1996b). A synopsis of the Rhigonematidae (Nematoda), with an outline classification of the Rhigonematida. *Afro-Asian Journal of Nematology* 6, 137-150.
Retrieved from <https://repository.rothamsted.ac.uk/journal/801y4/afro-asian-journal-of-nematology>

石橋信義 (編集). 2003. 線虫の生物学. 東京大学出版会, 東京, 日本, 290 pp.

岩島範子, 金子信博, 佐藤邦明, 若月利之, 増永二之. (2011). 密度と餌の違いを考慮したババヤスデ科 2 種 (キシヤヤスデ, ミドリババヤスデ) の糞の化学性の比較.

Edaphologia. Volume 88, 43-53. DOI: 10.20695/edaphologia.88.0_43

Jex, A. R., Schneider, T. H., Cribb, T. H. (2006a). The importance of host ecology in thelastomatid (Nematoda: Oxyurida) host specificity. *Parasitology International* 55, 169–174. DOI: 10.1016/j.parint.2006.03.001

Jex, A. R., Hu, M., Rose, H. A., Schneider, T. H., Cribb, T. H., Gasser, R. B. (2006b). Molecular characterization of Thelastomatoidea (Nematoda: Oxyurida) from cockroaches in Australia. *Parasitology* 133, 123–129. DOI: 10.1017/S0031182006009978

Jex, A. R., Schneider, T. H., Rose, H. A., Cribb, T. H. (2007). A comprehensive analysis of the biogeography of the thelastomatid pinworms from Australian burrowing cockroaches (Blaberidae: Geoscapheinae, panesthiinae): No evidence of coevolution. *Parasitology* 134, 1387–1399. DOI: 10.1017/S0031182007002843

加賀航士郎, 長江星八, 長谷川浩一. 異なる環境に生息するケラ宿主と寄生性線虫種の比較. 2023 年度 日本線虫学会第 30 回東京大会, 2023 年 9 月 6 日~7 日, 法政大学小金井キャンパス, 小金井市.

金子信博. (2004). 土壌の生成と土壌動物. 化学と生物. Volume 42, 408-415. DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu1962.42.408

Kausar, S. (2019). Filariasis. *Helminthiasis*. DOI: 10.5772/intechopen.89454

Kirillova, N. Yu., Kirillov, A. A. (2021). Life Cycle of *Cosmocerca ornata* (Nematoda: Cosmocercidae), a Parasite of Amphibians. *Inland Water Biology* 14, 316–330. DOI: 10.1134/S1995082921020061

Koie, M. (2000). The life-cycle of the flatfish nematode *Cucullanus heterochrous*. *Journal of helminthology* 74, 323-328. DOI: 10.1017/S0022149X00000470

Korsos, Z., Nakamura, Y., Tanabe, T. (2011). Two new millipede species of the genus *Riukiaria* (Diplopoda, Polydesmida, Xystodesmidae) endemic to the Ryukyu Archipelago, Japan. *Zootaxa* 2877, 55-68. DOI: 10.11646/ZOOTAXA.2877.1.3

Kudo, N., Koneguchi, T., Ikadai, H., Oyamada, T. (2003). Experimental infection of laboratory animals and sheep with *Gongylonema pulchrum* in Japan. *Journal of veterinary medical science* 65, 921-925. DOI: 10.1292/jvms.65.921

Laidoudi, Y., Medkour, H., Latrofa, M. S., Davoust, B., Diatta, G., Sokhna, C., Barciela A., Hernandez-Aguilar, R. A., Raoult, D., Otranto, D., Mediannikov, O. (2020). Zoonotic *Abbreviata caucasica* in wild chimpanzees (*Pan troglodytes verus*) from Senegal. *Pathogens* 9, 517. DOI: 10.3390/pathogens9070517

Lello, J., Boag, B., Fenton, A., Stevenson, I. R., Hudson, P. J. (2004). Competition and mutualism among the gut helminths of a mammalian host. *Nature* 428, 840-844. DOI: 10.1038/nature02490

Lheritier, M., Perroux, M., Vannier, J., Escarguel, G., Wesener, T., Moritz, L., Chabard, D., Adrien, J., Perrier, V. (2023). Fossils from the Montceau-les-Mines Lagerstätte (305 Ma) shed light on the anatomy, ecology and phylogeny of Carboniferous millipedes. *Journal of Systematic Palaeontology* 21, 2169891. DOI: 10.1080/14772019.2023.2169891

Li, L., Hasegawa, H., Roca, V., Xu, Z., Guo, Y. N., Sato, A., Zhang, L. P. (2014). Morphology, ultrastructure and molecular characterisation of *Spiroxys japonica* Morishita, 1926 (Spirurida: Gnathostomatidae) from *Pelophylax nigromaculatus* (Hallowell)(Amphibia: Ranidae). *Parasitology Research*. 113, 893-901. DOI: 10.1007/s00436-013-3720-9

Li, L., Lü, L., Nadler, S. A., Gibson, D. I., Zhang, L. P., Chen, H. X., Zhao, W. T., Guo, Y. N. (2018). Molecular phylogeny and dating reveal a terrestrial origin in the early

carboniferous for ascaridoid nematodes. *Systematic Biology* 67, 888-900. DOI: 10.1093/sysbio/syy018

Liu, G. H., Sun, M. M., Elsheikha, H. M., Fu, Y. T., Sugiyama, H., Ando, K., Sohn, W. M., Zhu, X. Q., Yao, C. (2020). Human gnathostomiasis: a neglected food-borne zoonosis. *Parasites & Vectors* 13, 1-11. DOI: 10.1186/s13071-020-04494-4

Lund, E. E., Wehr, E. E., Ellis D. J. (1966). Earthworm Transmission of *Heterakis* and *Histomonas* to Turkeys and Chickens. *The Journal of Parasitology* 52, 899-902. DOI: 10.2307/3276528

Magalhaes, J. G., Tattoli, I., Girardin, S. E. (2007). The intestinal epithelial barrier: how to distinguish between the microbial flora and pathogens. *In Seminars in immunology* 19, 106-115. DOI: 10.1016/j.smim.2006.12.006

Mahmoud, N. E. (1999). Crocodiles as a source of nematode larval infestation among fish species in Lake Naser, Egypt. *Assiut Veterinary Medical Journal* 40, 88-102. DOI: 10.21608/AVMJ.1999.182327

Malysheva, S. V. (2016). Morphometrics and molecular analysis of *Ozolaimus linstowi* n. sp. (Oxyuroidea: Pharyngodonidae) from the green lizard *Iguana iguana*. *Journal of Helminthology* 90, 186-98. DOI: 10.1017/S0022149X15000061

Marek, P., Papaj, D., Yeager, J., Molina, S., Moore, W. (2011). Bioluminescent aposematism in millipedes. *Current Biology* 21, 680-681. DOI: 10.1016/j.cub.2011.08.012

Marek, P. E., Bond, J. E. (2009). A Müllerian mimicry ring in Appalachian millipedes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 9755-9760. DOI: 10.1073/pnas.0810408106

Mäser, P. (2022). Filariiae as organisms. *Human and Animal Filariases: Landscape,*

Challenges, and Control 17-32. DOI: 10.1002/9783527823413.ch2

Matsushashi, S., Hirata, A., Akiba, M., Nakamura, K., Oguro, M., Takano, K. T., Nakao, K., Hijioka, Y., Matsui, T. (2020). Developing a point process model for ecological risk assessment of pine wilt disease at multiple scales. *Forest Ecology and Management* 463, 118010. DOI: 10.1016/j.foreco.2020.118010

Maynard, C. L., Elson, C. O., Hatton, R. D., Weaver, C. T. (2012). Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*. 489, 231-241. DOI: 10.1038/nature11551

Means, J. C., Hennen, D. A., Tanabe, T., Marek, P. E. (2021). Phylogenetic systematics of the millipede family Xystodesmidae. *Insect Systematics and Diversity* 5, 1. DOI: 10.1093/isd/ixab003

Michels, C., Goyal, P., Nieuwenhuizen, N., Brombacher, F. (2006). Infection with *Syphacia obvelata* (pinworm) induces protective Th2 immune responses and influences ovalbumin-induced allergic reactions. *Infection and immunity* 74, 5926-5932. DOI: 10.1128/iai.00207-06

Mikhaljova, E. V. (2021). Review of the millipede genus *Levizonus* Attems, 1898, with description of a new species from the Far East of Russia (Diplopoda, Polydesmida, Xystodesmidae). *European Journal of Taxonomy* 751, 159-184. DOI: 10.5852/ejt.2021.751.1387

Mitchell, R. L., Strullu-Derrien, C., Kenrick, P. (2019). Biologically mediated weathering in modern cryptogamic ground covers and the early Paleozoic fossil record. *Journal of the Geological Society* 176, 430-439. DOI: 10.1144/jgs2018-191

Moravec, F., Scholz, T. (1994). Observations on the development of *Syncuaria squamata* (Nematoda: Acuariidae), a parasite of cormorants, in the intermediate and paratenic hosts. *Folia parasitologica* 41, 183-192. Retrieved from <https://folia.paru.cas.cz/>

Moravec, F., Huffman, D. G. (2001). Observations on the biology of *Rhabdochona kidderi texensis*, a parasite of North American cichlids. *Journal of Helminthology* 75, 197-203. DOI : 10.1079/JOH200142

Moravec, F., Justine, J. L. (2021). *Echinocephalus inserratus* sp. n. (Nematoda: Gnathostomatidae) from the stingray *Pastinachus ater* (Dasyatidae) and new records of congeneric and some other nematode larvae from teleost fishes off New Caledonia. *Folia Parasitologica* 68. DOI : 10.14411/fp.2021.01

Morffe, J., Hasegawa, K. (2017a). *Rhigonema naylae* n. sp. (Rhigonematomorpha: Rhigonematidae) a new parasitic nematode from a Japanese polydesmid millipede (Polydesmida: Xystodesmidae). *Zootaxa* 4269, 277-286.
DOI: 10.11646/zootaxa.4269.2.6

Morffe, J., Hasegawa, K. (2017b). Morphological and molecular characterization of *Travassosinema claudiae* n. sp. (Oxyuridomorpha: Travassosinematidae) from the Japanese millipede *Parafontaria laminata* (Attems, 1909) (Polydesmida: Xystodesmidae). *Zootaxa* 4282, 166-178. DOI: 10.11646/zootaxa.4282.1.10

Morffe, J., Garcia, N., Hasegawa, K., & Carreno, R. A. (2019). A new species of *Aoruiroides* Travassos & Kloss, 1958 (Nematoda: Oxyuridomorpha: Thelastomatidae) parasite of the wood-burrowing cockroach *Panesthia angustipennis spadica* (Shiraki, 1906) (Blattodea: Blaberidae: Panesthiinae) from Japan with comments on the validity of the genus *Aoruiroides*. *Zootaxa* 4712, 365-376. DOI: 10.11646/zootaxa.4712.3.3

Morffe, J., García, N., Hasegawa, K. (2023). Morphological and molecular characterization of *Desmicola ryukyuensis* n. sp. (Nematoda: Oxyuridomorpha: Thelastomatidae) from the wood-feeding cockroach *Panesthia angustipennis yayeyamensis* Asahina, 1988 (Blattaria: Blaberidae) in the Ryukyu archipelago, Japan. *Zootaxa* 5389, 213-226. DOI: 10.11646/zootaxa.5389.2.4

Morris, J. L., Puttick, M. N., Clark, J. W., Edwards, D., Kenrick, P., Pressel, S., Wellman, C. H., Yang, Z., Schneider, H., Donoghue, P. C. (2018). The timescale of early land plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115, E2274-E2283. DOI: 10.1073/pnas.1719588115

Mowlavi, G., Mikaeili, E., Mobedi, I., Kia, E., Masoomi, L., Vatandoost, H. (2009). A survey of dung beetles infected with larval nematodes with particular note on *Copris lunaris* beetles as a vector for *Gongylonema* sp. in Iran. *The Korean Journal of Parasitology* 47, 13. DOI: 10.3347/kjp.2009.47.1.13

Murata, K., Hasegawa, H., Nakano, T., Noda, A., Yanai, T. (2002). Fatal infection with human pinworm, *Enterobius vermicularis*, in a captive chimpanzee. *Journal of Medical Primatology* 31, 104–108. DOI: 10.1034/j.1600-0684.2002.01017.x

Muschiol, D., Marković, M., Threis, I., Traunspurger, W. (2008). Predatory copepods can control nematode populations: A functional-response experiment with *Eucyclops subterraneus* and bacterivorous nematodes. *Fundamental and Applied Limnology* 172, 317 – 324. DOI: 10.1127/1863-9135/2008/0172-0317

Nagae, S., Sato, K., Tanabe, T., & Hasegawa, K. (2021). Symbiosis of the millipede parasitic nematodes Rhigonematoidea and Thelastomatoidea with evolutionary different origins. *BMC Ecology and Evolution* 21, 120. DOI: 10.1186/s12862-021-01851-4

Nakashima, K., Kimura, S., Ogawa, Y., Watanabe, S., Soma, S., Kaneko, T., Yamada, L., Sawada, H., Tung, C., Lu, T., Yu, J., Villar-Briones, A., Kikuchi, S., Satoh, N. (2018). Chitin-based barrier immunity and its loss predated mucus-colonization by indigenous gut microbiota. *Nature Communications* 9, 3402. DOI: 10.1038/s41467-018-05884-0

Nakamura, Y., Korsós, Z. (2010). Distribution and diversity of millipedes of the Ryukyu Archipelago, with the Senkaku and Daito island groups: A literature review (Arthropoda: Diplopoda). *Acta Arachnologica* 59, 73-86. DOI: 10.2476/asjaa.59.73

Nijima, K., Shinohara K. (1988). *Outbreaks of the Parafontaria laminata* group (Diplopoda: Xystodesmidae). *Japanese Journal of Ecology* 38, 257-268. DOI: 10.18960/seitai.38.3_257

Nouda, R., Kawagishi, T., Kanai, Y., Shimojima, M., Saijo, M., Matsuura, Y., Kobayashi, T. (2022). The nonstructural p17 protein of a fusogenic bat-borne reovirus regulates viral replication in virus species-and host-specific manners. *PLoS pathogens* 18, e1010553. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010553

Ogawa, K., Sata, N., Sugihara, Y., Miyazaki, H., Ueno, M., Kuramochi, S., Shirakashi, S. (2023). Establishment of the Life Cycle of *Philometroides seriolae* (Nematoda: Philometridae) Using Surrogate Copepod Intermediate Host. *Fish Pathology* 58, 15-21. DOI: doi.org/10.3147/jsfp.58.15

Otranto, D., Lia, R., Cantacessi, C., Testini, G., Troccoli, A., Shen, J., Wang, Z. (2005). Nematode biology and larval development of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in the drosophilid intermediate host in Europe and China. *Parasitology* 131, 847-855. DOI: 10.1017/S0031182005008395

Ozawa, S., Vicente, C., Sato, K., Yoshiga, T., Kanzaki, N., Hasegawa, K. (2014). First report of the nematode *Leidynema appendiculata* from *Periplaneta fuliginosa*. *Acta Parasitologica* 59, 219-228. DOI: 10.2478/s11686-014-0230-6

Ozawa, S., Morffe, J., Vicente, C. S., Ikeda, K., Shinya, R., Hasegawa, K. (2016). Morphological, molecular and developmental characterization of the thelastomatid nematode *Thelastoma bulhoesi* (de Magalhães, 1900) (Oxyuridomorpha: Thelastomatidae) parasite of *Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758) (Blattodea: Blattidae) in Japan. *Acta Parasitologica* 61, 241-254. DOI: 10.1515/ap-2016-0034

Ozawa, S., Hasegawa, K. (2018). Broad infectivity of *Leidynema appendiculatum* (Nematoda: Oxyurida: Thelastomatidae) parasite of the smokybrown cockroach

Periplaneta fuliginosa (Blattodea: Blattidae). *Ecology and Evolution* 8, 3908-3918. DOI:10.1002/ece3.3948

Petri, L. H. (1950). Life cycle of *Physaloptera rara* Hall and Wigdor, 1918 (Nematoda: Spiruroidea) with the cockroach, *Blattella germanica*, serving as intermediate host. *Transactions of the Kansas Academy of Science* 53, 331-337. DOI: 10.2307/3626145

Phillips, G., Bernard, E. C., Pivar, R. J., Moulton, J. K., Shelley, R. M. (2016). *Coronostoma claireae* n. sp. (Nematoda: Rhabditida: Oxyuridomorpha: Coronostomatidae) from the Indigenous Milliped (Chamberlain, 1943) (Diplopoda: Spirobolida) in Ocala National Forest, Florida. *Journal of Nematology* 48, 159-169. DOI: 10.21307/jofnem-2017-023

Phillips, G., Moulton, J. K., Bernard, E. C. (2020). *Heth pivari* n. sp. (Nematoda: Ransomnematodea: Hethidae) from the indigenous North American millipede *Narceus gordanus* (Spirobolida: Spirobolidae), with keys for worldwide *Heth* spp. *Zootaxa* 4861, 486-514. DOI: 10.11646/zootaxa.4861.4.2

Prieto, A. A., Ryan, M. J. (1978). Some observations of the social behavior of the Arizona chuckwalla, *Sauromalus obesus tumidus* (Reptilia, Lacertilia, Iguanidae). *Journal of Herpetology* 12, 327-336. DOI: 10.2307/1563613

Puillandre, N., Brouillet, S., Achaz, G. (2021). ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Molecular Ecology Resources* 21, 609–620. DOI: 10.1111/1755-0998.13281

Purwaningsih, E., Dewi, K., Hasegawa, H. (2015). Nematodes of amphibians from Java, Indonesia, with a description of new species, *Meteterakis wonosoboensis* n. sp. (Nematoda : Heterakoidea). *Zootaxa* 3974, 24. DOI: 10.11646/zootaxa.3974.4.3

Reid, J. W., Williamson, C. E. (2010). Copepoda. In *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates* (pp. 829-899). Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-374855-3.00021-2

Rimer, J., Cohen, I. R., & Friedman, N. (2014). Do all creatures possess an acquired immune system of some sort?. *Bioessays*. 36, 273-281. DOI: 10.1002/bies.201300124

Robles, M. R., Navone, G. (2010). Redescription of *Syphacia venteli* Travassos 1937 (Nematoda: Oxyuridae) from *Nectomys squamipes* in Argentina and Brazil and description of a new species of *Syphacia* from *Melanomys caliginosus* in Colombia. *Parasitology Research* 106, 1117–1126. DOI: 10.1007/s00436-010-1772-7

Roca-Geronès, X., Fisa, R., Montoliu, I. (2018). Biogeography of Anisakis (Anisakidae) and Hysterothylacium (Rhaphidascarididae) nematode species in consumed fish. *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences VIII, 2018, Research Signpost. Editors: Diego Muñoz-Torrero, Yolanda Cajal and Joan Maria Llobet*. ISBN: 978-81-308-0579-5. Chapter 6, p. 95-118.

Rojas, A., Freedberg, N., Markovics, A., Gottlieb, Y., Baneth, G. (2017). Influence of physical and chemical factors on the embryonation, hatching and infectivity of *Spirocerca lupi*. *Veterinary Parasitology* 242, 71-78. DOI: 10.1016/j.vetpar.2017.05.026

Ruiz-Aravena, M., McKee, C., Gamble, A., Lunn, T., Morris, A., Snedden, C. E., Yinda, C. K., Port, J. R., Buchholz, D. W., Yeo, Y. Y., Faust, C., Jax, E., Dee, L., Jones, D. N., Kessler, M. K., Falvo, C., Crowley, D., Bharti, N., Brook, C. E., Aguilar, H. C., Peel, A. J., Restif, O., Schountz, T., Parrish, C. R., Gurley, E. S., Lloyd-Smith, J. O., Hudson, P. J., Munster, V. J., Plowright, R. K. (2022). Ecology, evolution and spillover of coronaviruses from bats. *Nature Reviews Microbiology* 20, 299-314. DOI: 10.1038/s41579-021-00652-2

Saitoh, Y. (1992). Studies on the artificial infection of chicken with the large roundworm, *Ascaridia galli*, with special reference to the factors influencing the infection. *NDL Digital Collections*. DOI: 10.11501/3064032

Saitoh, Y., Yokokura, Y., Itagaki, H. (1993). Earthworms as a Transport Host of the Rat Cecal

Worm, *Heterakis spumosa*. *Japanese Journal of Parasitology* 42, 392-397. Retrieved from <https://jsparasitol.org/archive/index.html>

Sata, N. (2018). Allopatric speciation of *Meteterakis* (Heterakoidea: Heterakidae), a highly dispersible parasitic nematode, in the East Asian islands. *Parasitology International* 67, 493-500. DOI: 10.1016/j.parint.2018.04.008

Schell, S. C. (1952). Studies on the life cycle of *Physaloptera hispida* Schell (Nematoda: Spiruroidea) a parasite of the cotton rat (*Sigmodon hispidus littoralis* Chapman). *The Journal of Parasitology* 38, 462-472. DOI: 10.2307/3273926

Selden, P., Read, H. J. (2008). The oldest land animals: Silurian millipedes from Scotland. *Bulletin of the British Myriapod & Isopod Group* 23, 36-37. Retrieved from <https://bmig.org.uk/>

Shears, J., Kennedy, C. (2005). The life cycle of *Paraquimperia tenerrima*: A parasite of the European eel *Anguilla anguilla*. *Journal of Helminthology* 79, 169-176. DOI: 10.1079/JOH2004270

篠原圭三郎, 田辺力, Korsós, Z. (1999). ヤスデ綱(倍脚綱) Diplopoda. 青木淳一(編). 日本産土壌動物:分類のための図解検索. 東海大学出版会, pp. 943-984.

Sierwald, P., Bond, B. E. (2007). Current Status of the Myriapod Class Diplopoda (Millipedes): Taxonomic Diversity and Phylogeny. *Annual Review of Entomology* 52, 401-420. DOI: 10.1146/annurev.ento.52.111805.090210

Sokolov, S. G., Gordeev, I. I. (2021). Morphology and phylogeny of the parasitic nematode *Mooleptus rabuka* (Machida, Ogawa & Okiyama, 1982)(Rhabditida, Spirurina: Mooleptinae nom. nov.), with notes on taxonomy of the family Gnathostomatidae. *Journal of Helminthology* 95, e55. DOI: 10.1017/S0022149X21000390

Spiridonov, S. E., Cribb, T. H. (2012). *Travassosinema dalei* sp. n.(Thelastomatoidea; Nematoda) from the hind gut of an Australian scarabaeid larva. *New Zealand Journal of Zoology* 39, 291-300. DOI: 10.1080/03014223.2012.668855

Sprent, J. F. A. (1956). The life history and development of *Toxocara cati* (Schrank 1788) in the domestic cat. *Parasitology* 46, 54-78.

Retrieved from <https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology>

Stahl, W. (1963). Studies on the life cycle of *Syphacia muris*, the rat pinworm. *Keio Journal of Medicine* 12, 55-60. DOI: 10.2302/kjm.12.55

Stoev, P., Zapparoli, M., Golovatch, S., Enghoff, H., Akkari, N., Barber, A. (2010). Myriapods (Myriapoda). Chapter 7.2. *BioRisk* 4, 97-130. DOI: 10.3897/biorisk.4.51

Stromberg, P. C., Crites, J. L. (1974). The life cycle and development of *Camallanus oxycephalus* Ward and Magath, 1916 (Nematoda: Camallanidae). *The Journal of Parasitology* 60, 117-124. DOI: 10.2307/3278688

Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38, 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Tanabe, T. (1994). The milliped genus *Levizonus* (Polydesmida, Xystodesmidae) in Japan. *昆蟲* 62, 101-113.

田辺力 (2001). 多足類読本. 東海大学出版会 178 ページ. ISBN 978-4486015444

Tanabe, T. (2002). Revision of the millipede genus *Parafontaria* Verhoeff, 1936 (Diplopoda, Xystodesmidae). *Journal of Natural History* 36, 2139-2183. DOI: 10.1080/00222930110085610

Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22, 4673–4680. DOI: 10.1093/nar/22.22.4673

Tremblay, N., Hünerlage, K., Werner, T. (2020). Hypoxia tolerance of 10 euphausiid species in relation to vertical temperature and oxygen gradients. *Frontiers in Physiology* 11, 248. DOI: 10.3389/fphys.2020.00248

Troyer, K. (1982). Transfer of Fermentative Microbes Between Generations in a Herbivorous Lizard. *Science* 216, 540-542. DOI: 10.1126/science.216.4545.540

Usovsky, M., Gamage, V. A., Meinhardt, C. G., Dietz, N., Triller, M., Basnet, P., Gillman, J. D., Bilyeu, K. D., Song, Q., Dhital, B., Nguyen, A., Mitchum, M. G., Scaboo, A. M. (2023). Loss-of-function of an α -SNAP gene confers resistance to soybean cyst nematode. *Nature Communications*, 7629. DOI: 10.1038/s41467-023-43295-y

van Straalen, N. M. (2021). Evolutionary terrestrialization scenarios for soil invertebrates. *Pedobiologia* 87. DOI: 10.1016/j.pedobi.2021.150753

van Waerebeke, D. (1978). Description de *Cephalobellus ovumglutinosus* n. sp. et de *Leidynema portentosae* n. sp. (Nematoda: Thelastomatidae), parasites intestinaux de blattes, et redéfinition du genre *Leidynema* Schwenck, 1926 (in Travassos, 1929). *Revue de Nématologie* 1, 151–163.

Retrieved from <https://repository.rothamsted.ac.uk/journal/809yw/revue-de-nematologie>

Vicente, C. S., Ozawa, S., Hasegawa, K. (2016). Composition of the cockroach gut microbiome in the presence of parasitic nematodes. *Microbes and environments* 31, 314-320. DOI: 10.1264/jsme2.ME16088

Virgilio, L. R., Nogueira, A., Takemoto, R. M., Passere, M. D., de Oliveira, A. V., Meneguetti, D. U. O., Camargo, M. A., Pereira, F. B. (2023). Morphological description

and molecular characterization of *Ancyracanthus electrophori* n. sp. (Gnathostomatoidea: Gnathostomatidae): a new nematode parasitic in the electric eel *Electrophorus varii* (Gymnotiformes: Gymnotidae), from the Brazilian Amazon. *Journal of Helminthology* 97, e9. DOI: 10.1017/S0022149X22000864

Wang, L., Li, D., Yin, C., Tang, H., Luo, B., Yan, R., Shen, Y., Liu, H. (2022). Laboratory culture and life cycle of *Thelazia callipaeda* in intermediate and definitive hosts. *Pathogens* 11, 1066. DOI: 10.3390/pathogens11091066

Wesener, T., Moritz, L. (2018). Checklist of the Myriapoda in Cretaceous Burmese amber and a correction of the Myriapoda identified by Zhang (2017). *Check List* 14, 1131-1140. DOI: 10.15560/14.6.1131

Wilson, H. M., Anderson, L. I. (2004). Morphology and taxonomy of Paleozoic millipedes (Diplopoda: Chilognatha: Archipolypoda) from Scotland. *Journal of Paleontology* 78, 169-184.
DOI: 10.1666/0022-3360(2004)078<0169:MATOPM>2.0.CO;2

Wilson, H. M. (2006). Juliformian millipedes from the Lower Devonian of Euramerica: implications for the timing of millipede cladogenesis in the Paleozoic. *Journal of Paleontology* 80, 638-649. DOI: 10.1666/0022-3360(2006)80[638:JMFTLD]2.0.CO;2

World Health Organization. (2010). Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: *first WHO report on neglected tropical diseases* (No. WHO/HTM/NTD/2010.1). World Health Organization. Retrieved from <https://policycommons.net/artifacts/561625/working-to-overcome-the-global-impact-of-neglected-tropical-diseases/1539560/> on 30 Dec 2023. CID: 20.500.12592/66vvjd.

Xiaodan, L., Zhensheng, W., Ying, H., Hongwei, L., Jianqiu, J., Peiru, Z., Sha, S., Zhimin, Y. (2018). *Gongylonema pulchrum* infection in the human oral cavity: A case report and literature review. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology* 125, e49-e53. DOI: 10.1016/j.oooo.2017.11.019

Zhang, Y., Wang, L. D., Hasegawa, K., Nagae, S., Chen, H. X., Li, L. W., Li, L. (2022). Molecular identification of a new species of *Rhigonema* (Nematoda: Rhigonematidae) and phylogenetic relationships within the infraorder Rhigonematomorpha. *Parasites & Vectors* 15, 427. DOI: 10.1186/s13071-022-05544-9

Ziegler, M. A., Macpherson, C. N. (2019). *Toxocara* and its species. *CABI Reviews* 1-27. DOI: 10.1079/PAVSNNR201914053

謝辞

本論文の執筆に当たり、主査の中部大学応用生物学研究科の長谷川浩一教授、副査の大場裕一教授及び武井史郎講師には多大なるご指導、ご鞭撻をいただきました。また、九州や沖縄本島、関東のババヤスデ科ヤスデの採集に関しては、熊本大学大学院先端科学研究部の田辺力教授、本部町立博物館の田之岡綾香さんと藤川浩明さん、明治大学農学部植物線虫学研究室の藤森友太さんの全面的なご協力のおかげでこのような結果を得ることができました。

Institute of Ecology and Systematics の Jans Morffe さんには寄生性線虫の同定についてアドバイスをいただき、熊本大学大学院先端科学研究部の田辺力教授にはババヤスデ科ヤスデの同定など様々なアドバイスやご指導をいただきました。河北師範大学生命科学学院の李亮教授には寄生性線虫の系統解析のヒントをいただきました。長谷川研究室 OB の先輩方には在籍当時に研究に関する様々なことをご指導いただきました。小澤壮太博士には無脊椎動物の野外採集と解剖、その寄生性線虫の分離といった基盤的な研究技術をご指導いただき、浜口昂大博士、小池悠斗さん、澤之向大樹さんには研究を進めるうえで多くのご助言とサポートをいただきました。そして、長谷川研究室の同級生や後輩達との切磋琢磨や日々の討論によって研究者として、人として成長することができました。

アース製薬株式会社の角野智紀さん、長谷川研究室 OG の幾代以子さん、長谷川研究室 OB の永谷大樹さん、水越雅人さん、長谷川研究室の杉山大騎さん、加賀航士郎さんには、研究に使用したヤスデの一部を採集・ご提供いただきました。

また、これまでの研究は JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム JPMJSP2158、大幸財団研究助成、中部大学特別研究の支援により実施できました。

最後に、私の生活を支えて研究に専念できる環境を整えてくれた家族に感謝いたします。