

ウマ (*Equus caballus*) 消化管内繊毛虫における分子系統学的検討

石原 未希<sup>1</sup>, 伊藤 章<sup>2</sup>, 森田 達志<sup>1</sup>, 池 和憲<sup>1</sup>, 今井 壯一<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>日本獣医生命科学大・獣医寄生虫, <sup>2</sup>おおくさ動物病院)

Phylogenetic analysis of endosymbiotic ciliates in the horse (*Equus caballus*)

Miki ISHIHARA<sup>1</sup>, Akira ITO<sup>2</sup>, Tatsushi MORITA<sup>1</sup>, Kazunori IKE<sup>1</sup> and Soichi IMAI<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>Dept. Parasitol., Nippon Vet. Life Sci. Univ., <sup>2</sup>Ookusa Anim. Clin.)

## SUMMARY

Molecular phylogenetic analysis of endosymbiotic ciliates inhabiting the cecum and colon of horses (*Equus caballus*) was performed on the nucleotide sequences of the small subunit ribosomal RNA (SSU rDNA) of six ciliate species, *Triadinium caudatum*, *Spirodinium equi*, *Blepharocorys uncinata*, *Bundleia postciliata*, *B. nana*, and *B. benbrookii*. Molecular phylogenetic trees by neighbor joining and Bayesian methods constructed from their sequence data almost corresponded with the traditional classification based on the oral ciliary zone, suggesting that ancestors of the endosymbiotic ciliates of large herbivores are of the Family Buetschliidae, and that the Families Blepharocorythidae, Cyclopothidae, and Ophryoscolecidae were derived from the Family Buetschliidae.

**[目的]** 大型草食動物の消化管内には固有の一群からなる繊毛虫が多数生息しており, それらはリトストマテア綱エントディニオモルファ目, 前庭目, マクロポディニウム目の 3 目に分類される<sup>1)</sup>. これらの繊毛虫の生息域は草食動物の消化管内に限定されており, 隔離された環境の中で宿主の進化と共に独自の進化を歩んできたと考えられている<sup>2)</sup>. これらの繊毛虫の系統分類については形態学的特徴に基づく分類に加え, 近年分子系統樹による系統学的解析が進んでいるが, ウマを始めとする単胃草食動物の大腸内に生息する繊毛虫の遺伝子解析はほとんど行われていない. 今回, ウマ大腸内繊毛虫6種の 18S small subunit ribosomal RNA (18SSU rRNA) をコードする DNA (SSU rDNA) 解析を行い, 分子系統樹を構築して形態学的特徴に基づいた分類と比較した.

## [材料と方法]

## DNA 抽出およびシーケンス解析

山梨県石和市の屠畜場で屠殺されたウマ盲結腸内容物から, *Triadinium caudatum*, *Spirodinium equi*, *Blepharocorys uncinata* を分離した. また, 島根県安来市で飼育されていたアングロアラブの糞便から, *Bundleia postciliata*, *B. nana*, *B. benbrookii* を分離した. DNA抽出には凍結融解法を用い, PCR 後ダイレクトシーケンスを行った. *Bundleia* 属繊毛虫については単個体からの PCR およびダイレクトシーケンスを試みた.

## 分子系統樹の構築

シーケンス解析により新たに得られた塩基配列は DDBJ (DNA data base of Japan) へ登録した. 比較可能な有袋類および草食動物消化管内繊毛虫 38

種の SSU rDNA 配列を NCBI/Nucleotide データベースより抽出し, ClustalW にてアライメント後, 近隣接合 (NJ) 法およびベイズ (BI) 法を用いて分子系統樹を構築した.

**[結果と考察]** ①今回解析したエントディニオモルファ亜目スピロディニウム科の *T. caudatum*, *S. equi* は NJ, BI 系統樹いずれにおいても 同科の *Cochliatoxum periactum* および同亜目キクロポスチウム科の *Tripalmaria dogieli* とクレードを形成した. *T. dogieli* は口部繊毛域の形態がスピロディニウム科および他のキクロポスチウム科繊毛虫と異なり, また *T. dogieli* を除いたキクロポスチウム科繊毛虫各種は単系統を示しているため, *T. dogieli* をトリパルマリア科として独立させる可能性が示唆された. ②ブレファロコリス亜目ブレファロコリス科の *Blepharocorys uncinata* は, NJ, BI系統樹のいずれにおいても同属の *B. curvigula* とクレードを形成した. またカバの胃に生息するエントディニオモルファ亜目パレントディニウム科の *Parentodinium* sp. と姉妹群を示したため, *Parentodinium* 属のブレファロコリス亜目編入について検討する必要があるものと思われた. ③原始口垂目プチリア科の *Bundleia postciliata*, *B. nana*, *B. benbrookii* の 3 種は NJ, BI 系統樹のいずれにおいてもクレードを形成し, 前庭目パライトリカ科の *Paraisotricha colpoidea* と姉妹群を示した. このクレードは他のすべての草食動物消化管内繊毛虫が形成するクレードと姉妹群であり, この 2 科は消化管内繊毛虫全体の祖型である可能性が考えられたが, 形態学的な系統解析において重要視されている周口域及び前庭部繊毛域が 2 科の間で著しく異なる

ため、*Paraisotricha* 属繊毛虫の SSU rDNA 塩基配列についての再検討が必要である。④大型草食動物消化管内繊毛虫の目レベルの系統については、最も単純な虫体構造を持つ原始口歪目繊毛虫がまず分岐し、その後マクロポディニウム目繊毛虫を経て前庭目およびエントディニオモルファ目が分岐したことが考えられた。また、エントディニオモルファ目を構成する科レベルの系統については、原始口歪目のブチリア科繊毛虫が後腸発酵動物の大腸内に出現した後、周口域および前庭内繊毛域を有するブレファロコリス歪目のブレファロコリス科繊毛虫が分化

し、その後前庭部繊毛域を保持して分化したグループと前庭内繊毛域が前庭縁キネティ群へ分化したグループがそれぞれ派生したと考えられた。

#### 【文献】

- 1) Lynn (2008) *The ciliated protozoa. Characterization, Classification, and Guide to the Literature. 3rd ed.* Springer Science, pp.366-379.
- 2) Ogimoto and Imai (1981) *Atlas of Rumen Microbiology.* Japan Scientific Societies Press, Tokyo.