

学 位 論 文 要 旨

氏名 TRAN Thi Binh

題 目 : TAXONOMY AND PHYLOGENETIC CHARACTERIZATION OF
PARASITIC NEMATODES IN LIZARDS FROM VIETNAM
(ベトナム産トカゲ寄生線虫の分子系統学的分類に関する研究)

論文要旨 :

Parasites and parasitic fauna of lizards have been explored for a long time in the world, particularly in Europe, Russia and North America, whereas little is known about them in Vietnamese lizards. Considering that the territory of Vietnam is of special interest from the zoogeographical viewpoint and has a great richness of the fauna of lizards in the territory, exploration and understanding of the substantial diversity of lizard parasites in Vietnam are critically important, which may bring more information on the ecological relationships among lizards and biogeographical history of them in Vietnamese nature. In this thesis, I focused on nematodes of three categories (Pharyngodonidae, Cosmocercoidea, and Heterakidae) in Vietnamese lizards to clarify their taxonomical statuses with an aid of phylogenetic characterizations based on the ribosomal RNA gene (rDNA). Although morphological characters of taxonomic importance have been refined step by step to identify the species or make a border between different species during a long history of parasite descriptions, often the range of useful criteria varied by researchers or by observed parasites. In this sense, nucleotide sequencings provide additional data as well as phylogenetic positions of observed specimens even if a part of them show exceptional morphological features.

In Chapter 1, I characterized two nematode species of Pharyngodonidae (Oxyuroidea) collected from golden geckos, *Gekko badenii* (syn. *Gekko ulikovskii*; Sauria: Gekkonidae), which are currently known only from the highland in the central part of Vietnam. Geckos had abundant oxyurid nematodes in the large intestine with a high prevalence (90%), and based on morphological criteria I identified two new species, i.e., *Pharyngodon duci* and *Spauligodon vietnamensis*, as the 35th and 44th species assigned for each genus, respectively. A large number of immature oxyurids dwelled in the large intestine as well, indicating active and continuous infection with these two oxyurid species occurred among golden geckos. Records of two new species from an isolated lizard host population stimulate the understanding of their phylogenetic relationships with congeners, and this point will be pursued in future works.

In Chapter 2, I characterized morphologically and phylogenetically a new *Cosmocercoidea* species, i.e., *C. tonkinensis*, in the scale-bellied tree lizard, *Acanthosaura lepidogaster* (Squamata: Agamidae), from the northern and central parts of Vietnam. Currently 19 nominal *Cosmocercoidea* spp. have been recorded, mainly from amphibian host, and only two species, *C. variabilis* in North America and *C. sauria* in South America, have been recorded from lizards. Therefore, this new species is the third species from reptilian hosts. The 18S ribosomal rDNA of the new species is almost identical to that of a unique congener *C.*

dukae from land snails and slugs in North America. Similarly, between the present new species and *C. pulcher* from a toad (*Bufo japonicus*) in Japan, few nucleotide substitutions were noticed in the 18S to 28S rDNA sequence including the internal transcribed spacer (ITS) regions. It is needed to collect more specimens of diverse *Cosmocercoides* spp. to elucidate the significance of appreciated morphological criteria with reference to phylogenetic datasets.

In Chapter 3, I observed and compared the morphology of *Strongyluris calotis*, a heterakid nematode with cuticular flanges extend from the inner surface of lips, in the large intestine of agamid lizards (*Japalura* spp. and *Calotes emma*) from the Oriental region (Japan, Taiwan and Singapore) by SEM. It was for the first time to clarify the accurate arrangement of cephalic and caudal papillae in *Strongyluris* nematodes. Furthermore, although the species was described as having 10 pairs of caudal papillae in the previous works, we noticed a pair of united papilla structures and a pair of phasmids in this count of caudal papillae. When I collected and examined *S. calotis* specimens from *Calotes emma* living in the plain forest at low altitude, and *Pseudocalotes brevipes* living in the mountainous forest at high altitude in the northern part of Vietnam, the arrangement of caudal papillae in male worms from the former lizards was found to be comparable to classical *S. calotis* specimens, but male worms from the latter lizards did not have a pair of united papillae but had 10 pairs of independent caudal papillae with a pair of phasmids. Molecular genetic analyses of the rDNA from worms of the classical *S. calotis* morphotype from Japan and Singapore and two *S. calotis* morphotypes from Vietnam demonstrated absolutely identical nucleotide sequences of 18S rDNA and 5.8S rDNA with moderate nucleotide diversities in the ITS regions (96.6–98.5 %) and 28S rDNA (99.6–99.7 %). These results indicate the usefulness of molecular genetic analyses to know the relationships among multiple isolates of different origins, particularly when the isolate shows extraordinary morphological characters.

In Chapter 4, I tried to clarify the relationships of multiple morphotypes of *Meteterakis* spp. (Heterakidae) found in the large intestine of scale-bellied lizards, and identified at least two species.

In Chapter 5, I list up recorded parasites from Vietnamese lizards, which include a total of 45 parasite species (11 cestode species, 12 trematode species, 18 nematode species, 1 acanthocephalan species, and 3 pentastomida species) of 34 genera in 27 families. These parasites were recorded only from 10 lizard species in Vietnam. Therefore, we can easily suppose that we know an absolutely limited number of parasitic helminths in lizards distributed in Vietnam. More efforts should be paid to understand the real diversity of parasites in Vietnamese lizards.

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Tran Thi Binh
審査委員	主査：山口大学 教授 佐藤 宏
	副査：山口大学 教授 山本 芳実
	副査：鳥取大学 教授 奥 祐三郎
	副査：鹿児島大学 准教授 松尾 智英
	副査：山口大学 准教授 柳田 哲矢
題目	TAXONOMY AND PHYLOGENETIC CHARACTERIZATION OF PARASITIC NEMATODES IN LIZARDS FROM VIETNAM (ベトナム産トカゲ寄生線虫の分子系統学的分類に関する研究)
<p>審査結果の要旨：</p> <p>世界に広く分布するトカゲ類の寄生虫および寄生虫相については、欧州、ロシア、北米の研究者たちにより精力的に研究されてきているが、ベトナム産トカゲの寄生虫については部分的な知見の集積にとどまっている。動物地理学的視点からも、また、ベトナムに分布するトカゲ類の際だった豊富さからも、ベトナム産トカゲ類の寄生虫の多様性について大いに研究が進められるべきところである。このような研究の進展を通して、豊富なトカゲ類がどのような生態学的な相互関係をもち、ベトナムの変化に富む自然環境において、どのように個々の種が分布を広げていったのかを推測する手がかりになるかもしれない。本学位論文では、ベトナム産トカゲの大腸に寄生する 3 科(Pharyngodonidae、Cosmocercoidae および Heterakidae) の線虫に特に注目し、その分類学的に位置づけについて形態学的ならびにリボソーム RNA 遺伝子(rDNA)塩基配列解析により検討している。特に今回研究対象とした線虫については、専ら形態学的観察から種の記載が行われてきており、系統進化学的視点から種の検証が行われていない。これまでの種記載の妥当性や、個々の形態学的特徴が種鑑別の指標としてどこまで有用かを探る端緒となることを目指した研究とも捉えることができる。</p> <p>第 1 章では、ベトナム中部～南部の国境線沿いの山岳地帯に限局的に分布する golden gecko <i>Gekko badenii</i> (syn. <i>Gekko ulikovskii</i>) (Sauria: Gekkonidae) に寄生する線虫類を検討し、Pharyngodonidae (Oxyuroidea) 2 種、すなわち <i>Pharyngodon duci</i> と <i>Spauligodon vietnamensis</i> を新種記載するとともに、それぞれの属でそれまでに記載された 34 種あるいは 43 種との関係をそれぞれ考察した。これら 2 種は大腸寄生で、90%と高率に検出され、また、未成熟虫体の占める割合も高いことから、活発な感染伝播があると考えられた。生息環境が孤立したトカゲ種に寄生する線虫種の系統進化学的位置づけに興味をもたれるところであり、今後は分</p>	

子系統進化学的側面から研究を進展させる貴重な材料となると考えられた。

第 2 章では、ベトナム産クシトカゲの 1 種 *Acanthosaura lepidogaster* (Squamata: Agamidae) をベトナム各地から採集し、北部ならびに中央ベトナムで採集した個体の大腸から *Cosmocercoides tonkinensis* を新種記載した。従来、*Cosmocercoides* 属線虫は両生類から多くが種記載され、トカゲ類での寄生確認は、北米トカゲ寄生の *C. variabilis* および南米産トカゲ寄生の *C. sauria* に次いで 3 種目である。本種ならびに日本産ニホンヒキガエル (*Bufo japonicus*) から得た *C. pulcher* について 18S~28S rDNA 塩基配列を明らかにし、それまでに rDNA 情報が部分的に知られていた北米産陸棲貝やナメクジ寄生の *C. dukae* との比較を行い、形態学的あるいは宿主特異性から推測されるほどの塩基置換が確認できないことを明らかにした。尾部ロゼッタ様乳頭が種鑑別の有用な指標とされてたくさんの種が区分されてきているが、分子系統学的検討により、その指標の有用性について検証が行われるべきことが考察された。

第 3 章では、ベトナム、日本、台湾、シンガポール産のキノボリトカゲ類に寄生する盲腸虫科の *Strongyluris calotis* について、形態学的ならびに分子系統学的に解析を行い、東洋区から少なくとも 6 種の種記載がある *Strongyluris* 属について、分子系統学的解析に基づく再分類が行われる必要性が高いことを指摘した。本属線虫も尾部乳頭が種鑑別の重要な指標とされてきたが、本研究では上記 4 カ国で収集された虫体について詳細な走査電子顕微鏡観察を実施し、尾部乳頭の過去の記述はファスミッドを含めるかたちで報告されていること、産地により 2 つの乳頭が融合して 1 つの乳頭構造を形成することがあることを明らかにするとともに、分子系統進化学的に、今回観察された産地による形態学的差異は種内変異と考えられることを指摘している。東洋区から種記載された 6 種が真の独立種かどうかは今後の研究課題となる。

第 4 章では、ベトナム産 *Acanthosaura lepidogaster* の大腸に高率に寄生する盲腸虫科の *Meteterakis* について、形態学的ならびに分子系統学的に検討し、形態学的指標からは別種と区別される 2 形態型が同一種となること、すなわち、形態学的指標のみに頼る種鑑別がもつ危険性を考察した。

第 5 章では、過去 50 年間にわたり展開されたベトナム産トカゲ類からの寄生虫報告をまとめていく。これまで資料の多くがベトナム語あるいはベトナムの国内学会で報告されるのみで、一般には知ることができなかった記録について整理し、45 種 (条虫類 11 種、吸虫類 12 種、線虫類 18 種、鉤頭虫類 1 種、舌虫類 3 種) がトカゲ類 10 種から報告されている事実を明確にした。今後の研究の進展を考えた時、貴重な資料として活用が期待される。

以上の結果について学位論文としての妥当性を審査し、審査委員一同は、博士 (獣医学) の学位論文として十分な価値を有すると判定した。