

無腸類と藻類の共生進化

彦坂 暁¹, 彦坂-片山 智恵²

¹広島大学 大学院統合生命科学研究科
〒739-8521 広島県東広島市鏡山 1-7-1

²広島大学 自然科学研究支援開発センター
〒739-8527 広島県東広島市鏡山 1-4-2

Symbiotic Evolution of Acoels and Alga

Akira Hikosaka¹, Tomoe Hikosaka-Katayama²

¹Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University,
1-7-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima, 739-8521, Japan

²Natural Science Center for Basic Research and Development, Hiroshima University,
1-4-2 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima, 739-8527, Japan

Keywords: Acoela, Acoelomorpha, Horizontal transfer, Vertical Transfer

DOI: 10.24480/bsj-review.13a4.00222

1. はじめに

いまから 100 年以上前に出版された「Plant-Animals; A Study in Symbiosis」(Keeble 1910) という本がある。ここで「Plant-Animals」と呼ばれているのが、本稿でとりあげる無腸類 (Acoela) である。この本の中で著者は、この小さな蠕虫の体内にある緑色の細胞が、共生する微細藻類であることを丁寧に論証し、両者の共生関係のあり方について深く考察している。

無腸類と藻類の共生の研究には、百数十年にわたる長い歴史がある。一方で、おそらく多くの人 (生物学者も含めて) にとって、無腸類は馴染みのない生物だろう。本稿では、無腸類と藻類の共生関係と、その進化についての知見を紹介する。

2. 無腸類はどのような動物か

無腸類は世界中の海洋 (一部は汽水や淡水) に生息し、400 種ほどが知られている。脊椎動物や節足動物、軟体動物などの「高等」動物と同じく、三胚葉からなる左右相称動物 (Bilateria) だが、その体制は著しく単純である。腸などの上皮性の消化器官を持たず (なので無腸類と呼ばれる)、呼吸器系、循環器系、排出系などの器官系も、体腔も、付属肢などの構造もない。表皮は柔らかく、殻や内外骨格は持たない。単純な神経系と全身に網状に張り巡らされた筋肉を持ち、体型は柔軟に変形する。体は扁平で、体表に生えた繊毛によって這うように移動する。

無腸類のからだのつくりは一見、ヒラムシなどの扁形動物に似ており、かつては扁形動物門の渦虫綱無腸目に分類されていた。一方で、原腎管の欠如や上皮構造の特異性など、詳細な形態をみれば扁形動物との違いも大きい。そのため、その系統的位位置については長く議論

が続いてきた。1990年代以降、分子系統解析により他の扁形動物とは単系統群を形成しないことが明らかになり (Katayama et al. 1993; Katayama et al. 1995; Carranza et al. 1997), 無腸動物門 (Acoelomorpha) として独立させられた (Ruiz-Trillo et al. 1999)。その後、ゲノミクス解析により珍渦虫類 (Xenoturbella) との類縁性が示唆され、両者を珍無腸動物門 (Xenacoelomorpha) としてまとめることも提唱された (Philippe et al. 2011)。動物界における (珍) 無腸動物の系統的 position はまだ確定していないが、現生の左右相称動物の中でもっとも初期に分岐した基盤的な左右相称動物であるという説が有力である (図 1A)。すなわち、現生の新口動物や旧口動物がもつ複雑な諸器官をまだ獲得していなかった時代の祖先 (原左右相称動物) の姿を現在にとどめている可能性がある。一方で、無腸動物は新口動物のグループに入るという説もあり (図 1B), いまだに完全には決着がつかない (Cannon et al. 2016; Philippe et al. 2019)。どちらの説が正しいかによって、動物の進化の全体像が変わってしまうため、動物の初期進化を理解する上で鍵となる動物群の一つである。

一方、無腸類も他の系統と別れて以降、独自の進化を遂げてきた。その一つが微細藻類との共生関係の獲得である。とくに *Convolutidae* 科の無腸類には、体内に共生藻をもつものが多い。以下、無腸類と藻類の共生研究について概略を紹介する。

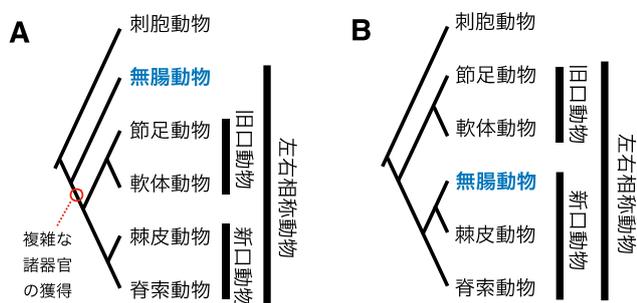


図 1. 無腸動物の系統的 position に関する 2 つの説

A: 現生の左右相称動物の中でもっとも初期に分岐した。B: 新口動物のグループに入る。

3. *Symsagittifera roscoffensis* とその共生藻

無腸類のなかでもっとも研究が進んでいるのがヨーロッパ産の *Symsagittifera roscoffensis* (Graff 1891) (原記載では *Convoluta* 属) である (Bailly et al. 2014; Arboleda et al. 2018)。前述の「Plant-Animals」にも、主としてこの種を用いた研究が紹介されている。

S. roscoffensis の名はフランスのブルターニュ地方ロスコフにちなんでつけられたが、当地のみならずポルトガルの南端 (Carvalho et al. 2013) やチャンネル諸島 (Doonan and Gooday 1982), ウェールズ (Mettam 1982) などでも分布が確認されている。発見当時からその体内の緑色細胞が注目され、これが共生する微細藻類であることが明らかにされてきた (Keeble 1910)。この共生藻はのちに *Platymonas convolutae* と命名され (Parke and Manton 1967), その後 *Tetraselmis* 属に移された (Norris et al. 1980)。この記載と前後する 1960 年代半ばから 80 年代半ばにかけて、*S. roscoffensis* と共生藻の関係について、生化学的手法や電子顕微鏡観察による基礎的な研究が行われてきた。

孵化したばかりの *S. roscoffensis* の幼体は共生藻を持たないが、孵化後数日のうちに周囲の環境から中央柔組織 (central parenchyma) に共生藻を取り込む。この共生は宿主にとって必須 (obligatory) であり、共生が成立しなければ長くは生存できない。取り込まれた共生藻は自由生活時に持っていた鞭毛, 細胞壁 (theca), 光受容器である眼点を失い, 宿主の表皮下

の、表皮細胞や筋肉細胞からなる末梢柔組織 (peripheral parenchyma) へ移動する (Oschman 1966; Provasoli et al. 1968; Douglas 1983b)。Oschman and Gray (1965) によれば、共生藻は細胞外に位置するが、Dorey (1965) や Douglas (1983b) は細胞内の液胞内に位置すると述べている。

S. roscoffensis の幼体に本来の共生藻と異なる系統の藻類を与えると、あるていど近縁の藻類ならば共生が成立する (Provasoli et al. 1968; Douglas 1983b)。しかし、その後、本来の共生藻を与えると、そちらが優勢になる (Provasoli et al. 1968)。すなわち宿主には共生藻の選択性がみられる。

共生藻の主な光合成産物はマンニトールであり (Muscatine et al. 1974)、固定された炭素は主にアミノ酸の形で共生藻から放出されて宿主に移動する (Kremer 1975; Boyle and Smith 1975)。また共生藻の滲出物である乳酸も宿主に利用される (Taylor 1974)。さらに、*S. roscoffensis* は長鎖の飽和/不飽和脂肪酸やステロールを新規に合成せず、共生藻からの供給に依存している (Meyer et al. 1979) 一方、共生藻は宿主の窒素廃棄物である尿酸を窒素源として利用する (Boyle and Smith 1975; Douglas 1983a)。このように *S. roscoffensis* が進化の過程で築いてきた共生藻との深い共生関係が明らかにされてきた。

4. 瀬戸内海の無腸類とその共生藻

日本でも未記載種を含め 30 種ほどの無腸類が確認されているが (Faubel et al. 2004)、最近まで無腸類を用いた実験的研究はあまり行われてこなかった。我々がフィールドにしている瀬戸内海では、ナイカймチョウウズムシ *Praesagittifera naikaiensis* (Yamasu 1982) (原記載では *Convoluta* 属) という種が優勢で、淡路島から九州まで、広範囲に分布が確認されている (図 2A) (Hikosaka-Katayama et al. 2020)。我々はこの種を日本における無腸類研究のモデルとして用いることをめざして、採集・飼育方法の確立 (Hikosaka-Katayama and Hikosaka 2015; 彦坂 and 彦坂-片山 2021)、分布調査と遺伝的分化の検討 (Hikosaka-Katayama et al. 2020)、ドラフトゲノムの解析 (Arimoto et al. 2019) などをすすめてきた。また、*Symsagittifera* 属の別の無腸類 (種は未同定) も瀬戸内海に生息しており、ナイカймチョウウズムシとしばしば同じ場所で見つかる (図 2B) (Hikosaka-Katayama et al. 2020)。これらのいずれも体内に緑色の共生藻を持つ。

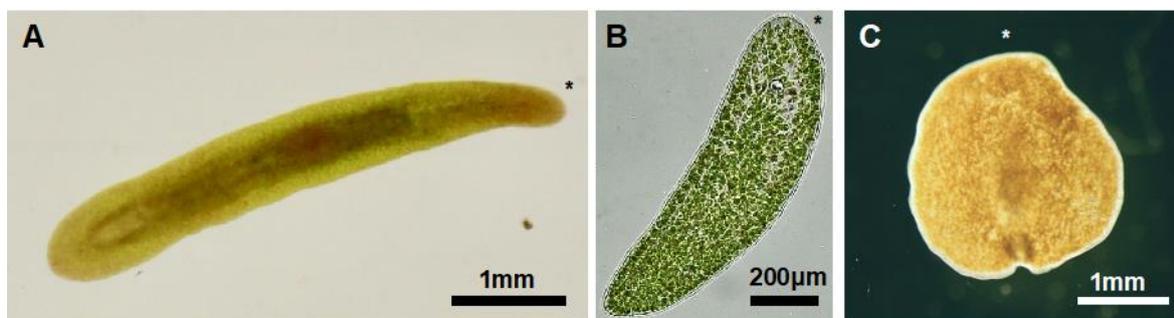


図 2. 3 種の無腸動物

A: 瀬戸内海産のナイカймチョウウズムシ。B: 瀬戸内海産の *Symsagittifera* sp.。C: 熱帯産のワミノア。アスタリスクは体の前方を示す。

我々はまず、瀬戸内海沿岸の各地でナイカイムチョウウズムシのサンプリングを行い、共生藻の葉緑体の *rbcL* 遺伝子（植物の DNA バーコーディングに利用される）の部分塩基配列を調べ、ハプロタイプ解析を行った（図 3）。その結果、主に 2 つのハプロタイプ（Pn_symbiont1, 2）が瀬戸内海全体に広く分布していることが分かった。分子系統解析を行うと、いずれも各種テトラセルミスと単系統群をなし、特に *T. suecica* などと系統的に近かった。

一方、*Symsagittifera* の共生藻についても *rbcL* 配列を調べると（Sy_symbiont1~4）、おなじテトラセルミスに含まれるものの、ナイカイムチョウウズムシの共生藻とは系統的に離れていることがわかった（図 3）。さきほど述べたように、これらの無腸類はしばしば同所的に生息している。にもかかわらず異なる共生藻を持つことから、かれらには共生藻の選択性があるのではないかと考えられた。

そこで、これらの共生藻を実験に用いるために、単離培養を行った。宿主を Ca/Mg フリー海水中で乖離し、遊離した共生藻を寒天培地にまいて培養すると、共生藻のコロニーが得られた。これを液体培地に移すことで、共生藻を単離培養できた。以下、ナイカイムチョウウズムシ由来の共生藻株を P 系統、*Symsagittifera* 由来の共生藻株を S 系統と呼ぶ。両系統は光学顕微鏡観察でも形態の違いがわかり、P 系統は細長い米粒状の形をしており、S 系統はより球に近い形をしていた（図 4）。

ナイカイムチョウウズムシの孵化直後の幼生は、共生藻を持たない。これに P 系統または S 系統の共生藻を与え、共生が成立するかを調べた。その結果、いずれも宿主に取り込まれ、体全体に分布しているのが見られた。つまり、共生藻を取り込む段階では、いずれの系統も取り込めることがわかる。次に、幼生に両系統の共生藻を同時に与える実験を行った。共生藻を与えて 14~17 日後に幼生を個別にサンプリングし、取り込まれた共生藻の種類を *rbcL* 配列により調べた。その結果、調べた 8 個体すべてが P 系統を取り込んでいた。

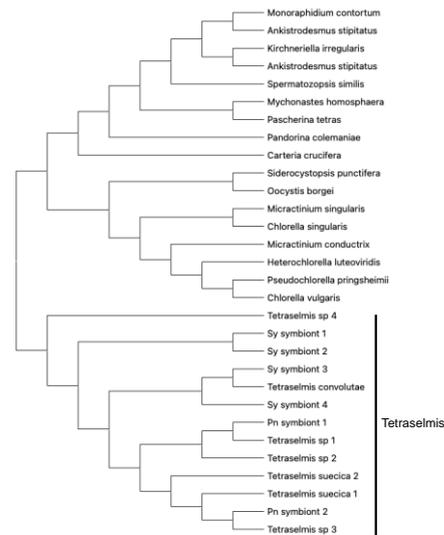


図 3. 共生藻の *rbcL* 配列による系統樹

ナイカイムチョウウズムシの共生藻（Pn_symbiont）と *Symsagittifera* sp. の共生藻（Sy_symbiont）は、いずれも *Tetraselmis* グループに入る。

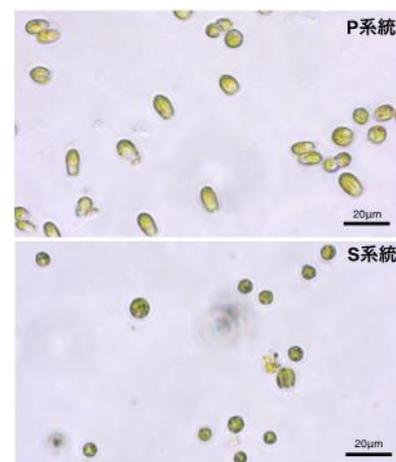


図 4. 培養した P 系統と S 系統の共生藻

さらに、P 系統または S 系統を与えた幼生の成長を調べると、P 系統を与えたグループは順調に成長したのに対し、S 系統を与えたグループはほとんど成長が見られなかった。つまり S 系統は、体に取り込まれたとしても、正常な共生が成立していない可能性が示唆された。

そこで、P 系統と S 系統それぞれを与えた幼生を電子顕微鏡で観察した。いずれの藻類も、表皮細胞やその下の筋肉細胞などと混在するように分布していたが、両者の様態には違いが見られた。P 系統では S 系統に比べて、光合成産物であるスターチが多く蓄積していた (図 5A, B)。また P 系統は表皮や筋肉等の細胞の間に埋め込まれ、周囲の細胞と密着し、押されて柔軟に変形しているが (図 5A)、S 系統では共生藻の周囲のスペースが広く、もとの丸い形を保っているように見えた (図 5B)。両者を比較すると、P 系統が宿主の細胞に「馴染んでいる」のに対して、S 系統と宿主細胞の関係は「よそよそしい」印象を受ける。さらに S 系統の表面を拡大してみると、細胞膜が断片化されている像や、細胞が崩壊しているような像も見えた (図 5C)。

以上の結果を総合すると、次のことが示唆される。瀬戸内海産の 2 種の無腸類は、同所的に生息している場合でも、環境中の特定の藻類を選択して共生させている。ナイカイムチョウウズムシは本来の共生藻以外も取り込み、表皮直下に配置することはできるが、本来の共生藻のように安定した共生関係を確立させることはできず、そのため共生藻からの利益を十分に受け取れないと考えられる。

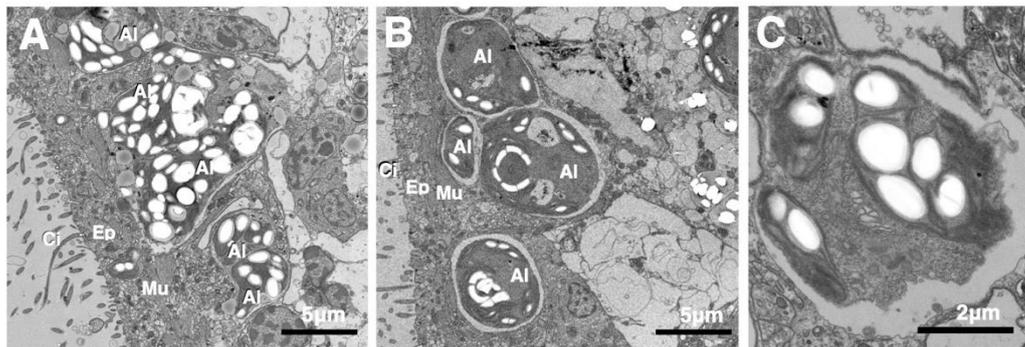


図 5. 宿主に取り込まれた P 系統と S 系統の共生藻の電子顕微鏡写真

A: P 系統。B: S 系統。C: S 系統の拡大図。Al: 共生藻, Ci: 繊毛, Ep: 表皮細胞, Mu: 筋肉細胞。

5. ワミノアにおける共生藻の垂直伝搬

私たち動物は餌を食べて生きている。微細藻類などを捕食していた無腸類の祖先が、進化のある時点で特定の相手を選んで共生することで、「植物」的な生活への一步を踏み出した。もちろん、あらゆる食べ物を共生させることはできないので、共生の相手を選ぶことは、共生が成立するために重要である。

そしてさらに「植物」化、すなわち共生相手との関係が深まっていく重要なステップの一つに、水平伝搬から垂直伝搬への進化がある。つまり、毎世代、新たに環境から共生藻を得るという方式から、親が子へ共生藻を伝達するという方式への進化である。多くの無腸類は、前述のように、水平伝搬により共生藻を獲得している。一方、無腸類の中には共生藻を卵に入れて垂直伝搬するワミノア属というグループがいる (図 2C)。ワミノアは熱帯の珊瑚礁に住む無腸類で、珊瑚の上で生活している (Winsor 1990; Barneah et al. 2007a)。かれらは *Symbiodinium* と *Amphidinium* という 2 種の褐虫藻と共生し、これらを垂直伝搬する (Barneah et al. 2007b)。この垂直伝搬はどのようにして可能になったのか、それを調べるために、我々はワミノアが共生藻を垂直伝搬するプロセスを調べた (Hikosaka-Katayama et al. 2012)。

ワミノアの成体では、2 種類の共生藻は成体の柔組織 (parenchyma) に分布していた (図 6)。ワミノアの卵形成では、初期の卵母細胞が体の前方に生じ、後へ移動するにつれて卵母細胞が成長していく。卵形成の初期には、いくつかの共生藻は卵母細胞の近くにあるが、卵母細胞内には見られず、卵母細胞を取り囲む濾胞細胞 (Accessory follicle cell) 内で観察された (図 6A, 7A)。卵形成後期になると、卵母細胞は前期よりも成長し、共生藻は濾胞細胞だけでなく卵母細胞内にも見られるようになった (図 6B, 7B, C)。この時期の卵母細胞と濾胞細胞の境界面をみると、濾胞細胞の細胞膜は卵母細胞に密着しており、随所に細胞膜のない間隙 membrane devoid region (MDR) が見られた。濾胞細胞の MDR 付近には藻類や脂質の液滴が観察され、MDR を通過している小胞も観察された (図 7D)。濾胞細胞はこの間隙を通して卵形成のための物質を輸送していると考え

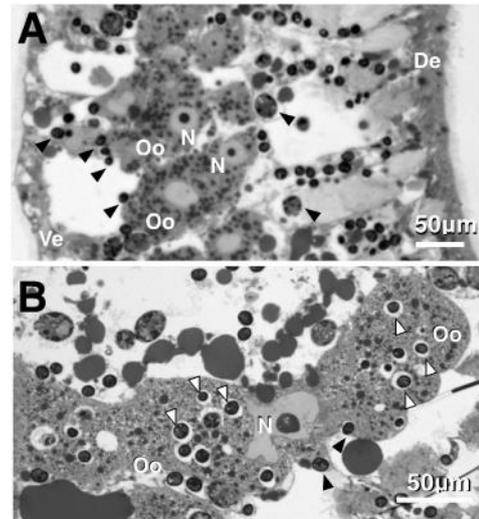


図 6. ワミノアの共生藻の分布

A: 卵母細胞形成初期。B: 卵母細胞形成後期。黒矢頭は卵母細胞外の共生藻、白矢頭は卵母細胞内の共生藻を示す。N: 卵母細胞の核、Oo: 卵母細胞、De: 背側表皮、Ve 腹側表皮。

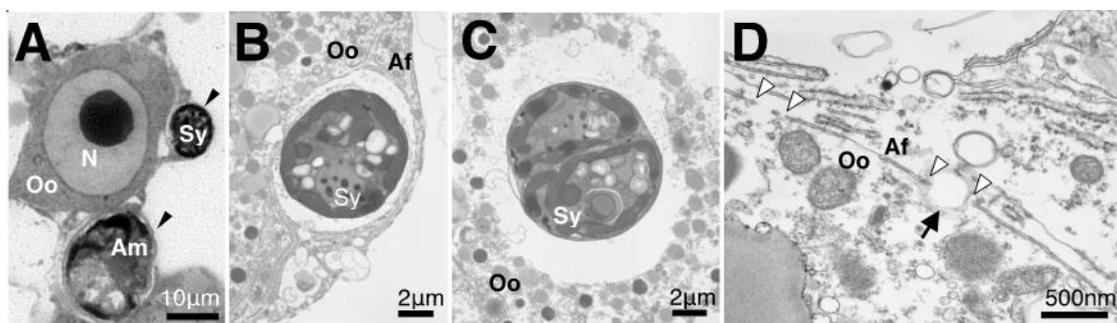


図 7. ワミノアの共生藻の垂直伝搬

A: 卵母細胞形成初期。B-C: 卵母細胞形成後期。B は濾胞細胞内、C は卵母細胞内に共生藻が見られる。D: 卵母細胞と濾胞細胞の境界にある MDR。黒矢頭: 共生藻、白矢頭: MDR、矢印: MDR を通過する小胞。N: 卵母細胞の核、Oo: 卵母細胞、Af: 濾胞細胞、Sy: *Symbiodinium*、Am: *Amphidinium*。

えられる。以上の観察から、共生藻はまず濾胞細胞に取り込まれ、輸送経路である MDR を利用して卵母細胞に入ることが示唆された。

ワミノアは共生藻を垂直伝搬するが、それと同時に外界からも共生藻を獲得している可能性も残されている。特にワミノアは褐虫藻を共生させているサンゴの上で共生生活しており、その粘膜を摂食しているとされているため

(Naumann et al. 2010) , 宿主であるサンゴから共生藻を獲得している可能性が考えられた。そこで我々はハナガタサンゴの褐虫藻 *Symbiodinium* と、3 種のサンゴ (ハナガタサンゴ, ヒユサンゴ, ボーンミドリイシ) に共生するワミノアの *Symbiodinium* について、ITS1-5.8S rRNA-ITS2 領域の塩基配列を調べ、分子系統解析を行なった。その結果、ワミノアの *Symbiodinium* は宿主のサンゴとは別の単一クレードにまとまることわかった (図 8) (Hikosaka-Katayama et al. 2012)。最近、国広らも *psbA^{ncf}* 配列を用いた分子系統解析により、ワミノアの共生藻は宿主サンゴの共生藻とは異なり、いくつかの例外を除いて単一クレードに含まれることを示した (Kunihiro and Reimer 2018)。一方で、国広らは、少数ではあるが、このクレードに含まれない *Symbiodinium* をもつワミノア个体がいることも報告している。この結果をみると、ワミノアが稀にはあるにせよ、環境から自由生活性の *Symbiodinium* を獲得できる可能性も、まだ否定はできない。

一方、もう一つの共生藻である *Amphidinium* の系統を 28S rDNA による系統解析で調べると、ワミノアの *Amphidinium* は自由生活性の *A. klebsii* と共生性の *A. gibbosum* の両方を含むクレードにまとまる (Hikosaka-Katayama et al. 2012)。このことから、ワミノアに共生する *Amphidinium* が自由生活の能力を残しており、環境から取り込まれている可能性も残された。

垂直伝搬されるワミノアの 2 種の共生藻が、共生に特化した系統なのか、あるいは自由生活もできるのかを調べることは、今後の興味深い課題である。

6. おわりに

かつて藻類を含む雑多な微生物を捕食していた動物が、特定の藻類を選択して共生を開始した。藻類との共生は動物に「植物的な生活」という飛躍的な進化をもたらす (図 9)。し

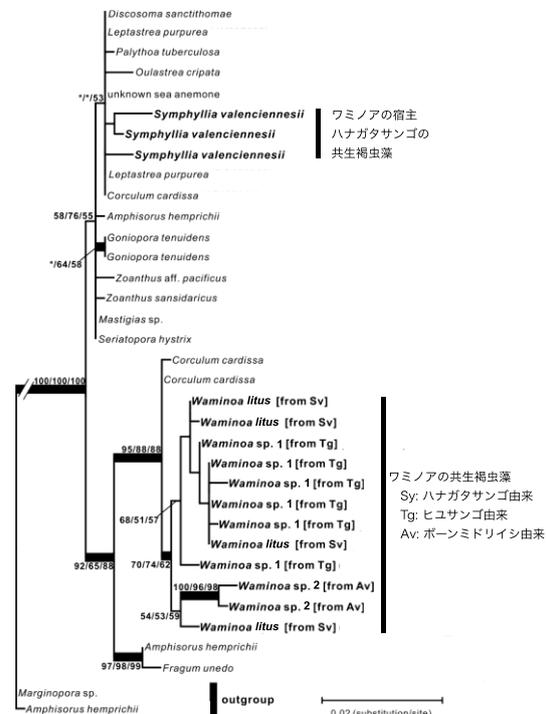


図 8. ワミノアと宿主サンゴの共生藻の系統関係

ITS1-5.8S rRNA-ITS2 領域を用いた ML 法による分子系統樹。数値は各ノードの支持率 (ML/NJ/MP 法) を示し、50% 未満は*で示した。Hikosaka-Katayama et al. (2012) を改変。

しかし利害が一致するとは限らない他の生物を体内に共生させることには、様々なリスクも伴うはずであり、適切な共生の相手を選択し、馴致することは、宿主にとって重要な課題だったはずだ。ナイカイムチョウウズムシに見られた共生藻の選択性は、そのようなリスク管理の進化史を反映していると考えられる。さらにワミノアにおける共生藻の垂直伝搬機構の進化は、動物の「植物化」をより前進させる重要な契機である。

私たちは、無腸類を用いて、動物と藻類の共生進化の重要なステップである、共生相手の選択、そして垂直伝搬機構の獲得がいかに進化してきたのかを、さらに明らかにしていきたいと考えている。

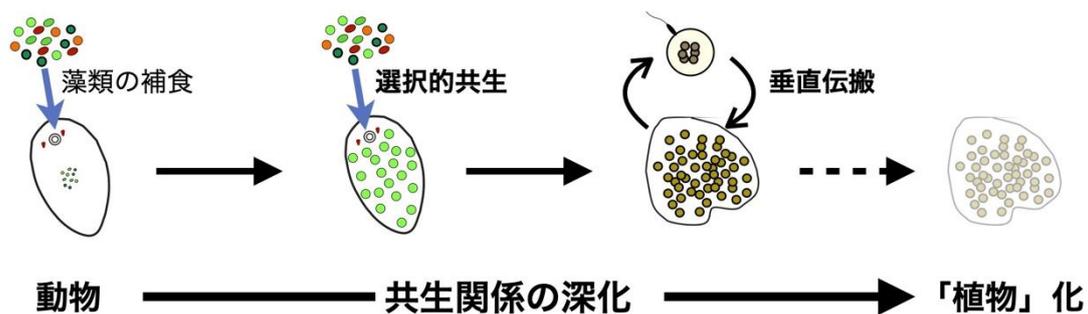


図9. 無腸類を用いた共生進化の研究

動物が藻類との共生関係を深めて「植物」化していく進化の過程には、いくつかの重要な契機がある。無腸類は、選択的な共生の成立、垂直伝搬機構の獲得などのステップを研究する上で、優れたモデルになり得る。

謝辞

ここで紹介した私たちの研究は、以下の共同研究者とともに行ったものです（敬称略）。小池一彦，小池香苗，山下洋，篠原美江，松浦綾音，新保早，岡部楓，綿貫七海。また研究は以下の研究助成を受けて行われました。科学研究費補助金（課題番号：21K06290，17K07535，26924012，24924009，23924013，22924017），水産無脊椎動物研究所 2017 年度個別研究助成。

引用文献

- Arboleda E, Hartenstein V, Martinez P, Reichert H, Sen S, Sprecher S, Bailly X. (2018) An emerging system to study photosymbiosis, brain regeneration, chronobiology, and behavior: The marine acoel *Symsagittifera roscoffensis*. *Bioessays* 40:e1800107. doi: 10.1002/bies.201800107
- Arimoto A, Hikosaka-Katayama T, Hikosaka A, Tagawa K, Inoue T, Ueki T, Yoshida M, Kanda M, Shoguchi E, Hisata K, Satoh N. (2019) A draft nuclear-genome assembly of the acoel flatworm *Praesagittifera naikaiensis*. *GigaScience* 8:1–8. doi: 10.1093/gigascience/giz023
- Bailly X, Laguerre L, Correc G, Dupont S, Kurth T, Pfannkuchen A, Entzeroth R, Probert I, Vinogradov S, Lechauve C, et al. (2014) The chimerical and multifaceted marine acoel *Symsagittifera roscoffensis*: from photosymbiosis to brain regeneration. *Frontiers in Microbiology* 5:498. doi: 10.3389/fmicb.2014.00498

- Barneah O, Brickner I, Hooge M, Weis VM, LaJeunesse TC, Benayahu Y. (2007a) Three party symbiosis: acoelomorph worms, corals and unicellular algal symbionts in Eilat (Red Sea). *Mar Biol* 151:1215–1223. doi: 10.1007/s00227-006-0563-2
- Barneah O, Brickner I, Hooge M, Weis VM, Benayahu Y. (2007b) First evidence of maternal transmission of algal endosymbionts at an oocyte stage in a triploblastic host, with observations on reproduction in *Waminoa brickneri* (Acoelomorpha). *Invertebr Biol* 126:113–119. doi: 10.1111/j.1744-7410.2007.00082.x
- Boyle JE, Smith DC. (1975) Biochemical interactions between the symbionts of *Convoluta roscoffensis*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 189:121–135. doi: 10.1098/rspb.1975.0046
- Cannon JT, Vellutini BC, Smith J, Ronquist F, Jondelius U, Hejnol A. (2016) Xenacoelomorpha is the sister group to Nephrozoa. *Nature* 530:89–93. doi: 10.1038/nature16520
- Carranza S, Bagaña J, Riutort M. (1997) Are the Platyhelminthes a monophyletic primitive group? An assessment using 18S rDNA sequences. *Mol Biol Evol* 14:485–497. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a025785
- Carvalho LF, Rocha C, Fleming A, Veiga-Pires C, Aníbal J. (2013) Interception of nutrient rich submarine groundwater discharge seepage on European temperate beaches by the acoel flatworm, *Symsagittifera roscoffensis*. *Mar Pollut Bull* 75:150–156. doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.07.045
- Doonan SA, Gooday GW. (1982) Ecological-studies of symbiosis in *Convoluta roscoffensis*. *Mar Ecol Prog Ser* 8:69–73.
- Dorey AE. (1965) The organization and replacement of the epidermis in acoelous turbellarians. *Q J Microsc Sci* 106:147–172.
- Douglas AE. (1983a) Uric acid utilization in *Platymonas convolutae* and symbiotic *Convoluta roscoffensis*. *J Mar Biol Assoc UK* 63:435–447. doi: 10.1017/S0025315400070788
- Douglas AE. (1983b) Establishment of the symbiosis in *Convoluta roscoffensis*. *J Mar Biol Assoc UK* 63:419–434.
- Faubel A, Kawakatsu M, Froehlich EM, Jones HD, Sasaki G. (2004) The present status of taxonomic studies on Acoela (Platyhelminthes) in Japan. <http://planarian.net/kswp/42/acoela.pdf>
- Graff LV. (1891) Die Organisation der Turbellaria Acoela. Mit einem Anhang ueber den Bau und die Bedeutung der Chlorophyllzellen von *Convoluta roscoffensis*.
- 彦坂暁, 彦坂-片山智恵 (2021) ナイカймチョウウズムシ. *比較内分泌学* 47:44–48.
- Hikosaka-Katayama T, Hikosaka A. (2015) 瀬戸内海産無腸動物 *Praesagittifera naikaiensis* の飼育システム. *広島大学総合科学研究科紀要 I* 10:17–23.
- Hikosaka-Katayama T, Hikosaka A. (2010) 無腸動物 *Waminoa* sp. の人工飼育と産卵法 —動物-藻類共生研究のモデル系開発に向けて. *広島大学総合科学研究科紀要 I* 5:39–45.
- Hikosaka-Katayama T, Koike K, Yamashita H, Hikosaka A, Koike K. (2012) Mechanisms of maternal inheritance of dinoflagellate symbionts in the acoelomorph worm *Waminoa litus*. *Zool Sci* 29:559–567. doi: 10.2108/zsj.29.559

- Hikosaka-Katayama T, Watanuki N, Niiho S, Hikosaka A. (2020) Geographical Distribution and Genetic Diversity of *Praesagittifera naikaiensis* (Acoelomorpha) in the Seto Inland Sea, Japan. *Zool Sci* 37:314–9. doi: 10.2108/zs190119
- Katayama T, Yamamoto M, Wada H, Satoh N. (1993) Phylogenetic position of acoel turbellarians inferred from partial 18s rDNA sequences. *Zool Sci* 10:529–536.
- Katayama T, Wada H, Furuya H, Satoh N, Yamamoto M. (1995) Phylogenetic position of the dicyemid mesozoa inferred from 18S rDNA sequences. *Biol Bull* 189:81–90.
- Keeble F. (1910) *Plant-animals; a study in symbiosis*. 1–190. Cambridge University Press (London).
- Kremer BP. (1975) $^{14}\text{CO}_2$ -fixation by endosymbiotic alga *Platymonas convolutae* within Turbellarian *Convoluta roscoffensis*. *Mar Biol* 31:219–226. doi: 10.1007/BF00387150
- Kunihiro S, Reimer JD. (2018) Phylogenetic analyses of *Symbiodinium* isolated from *Waminoa* and their anthozoan hosts in the Ryukyu Archipelago, southern Japan. *Symbiosis* 76:1–13. doi: 10.1007/s13199-018-0557-0
- Mettam C. (1979) A northern outpost of *Convoluta roscoffensis* in South Wales. *J Mar Biol Assoc UK* 59:1–2.
- Meyer H, Provasoli L, Meyer F. (1979) Lipid biosynthesis in the marine flatworm *Convoluta roscoffensis* and its algal symbiont *Platymonas convoluta*. *Biochim Biophys Acta* 573:464–480.
- Muscatine L, Boyle JE, Smith DC. (1974) Symbiosis of the Acoel Flatworm *Convoluta roscoffensis* with the Alga *Platymonas convolutae*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 187:221–234. doi: 10.1098/rspb.1974.0071
- Naumann MS, Mayr C, Struck U, Wild C. (2010) Coral mucus stable isotope composition and labeling: Experimental evidence for mucus uptake by epizoic acoelomorph worms. *Mar Biol* 157:2521–2531. doi: 10.1007/s00227-010-1516-3
- Norris RE, Hori T, Chihara M. (1980) Revision of the Genus *Tetraselmis* (Class Prasinophyceae). *Botanical Magazine-Tokyo* 93:317–339. doi: 10.1007/BF02488737
- Oschman JL. (1966) Development of the symbiosis of *Convoluta roscoffensis* Graff and *Platymonas* sp. (1). *J Phycol* 2:105–111. doi: 10.1111/j.1529-8817.1966.tb04603.x
- Oschman JL, Gray P. (1965) A study of the fine structure of *Convoluta roscoffensis* and its endosymbiotic algae. *Trans Am Microsc Soc* 84:368–375. doi: 10.2307/3224725
- Parke M, Manton I. (1967) The specific identity of the algal symbiont in *Convoluta roscoffensis*. *J Mar Biol Assoc UK* 47:445–464. doi: 10.1017/S002531540005654X
- Philippe H, Brinkmann H, Copley RR, Moroz LL, Nakano H, Poustaka AJ, Wallberg A, Peterson KJ, Telford MJ. (2011) Acoelomorph flatworms are deuterostomes related to Xenoturbella. *Nature* 470:255–258. doi: 10.1038/nature09676
- Philippe H, Poustka AJ, Chiodin M, Hoff KJ, Dessimoz C, Tomiczek B, Schiffer PH, Müller S, Domman D, Horn M, et al. (2019) Mitigating anticipated effects of systematic errors supports sister-group relationship between Xenacoelomorpha and Ambulacraria. *Curr Biol* 29:1818–1826.e6. doi: 10.1016/j.cub.2019.04.009

- Provasoli L, Yamasu T, Manton I. (1968) Experiments on the resynthesis of symbiosis in *Convoluta roscoffensis* with different flagellate cultures. J Mar Biol Assoc UK 48:465–478. doi: 10.1017/S0025315400034603
- Ruiz-Trillo I, Riutort M, Littlewood DT, Herniou EA, Bagueña J. (1999) Acoel flatworms: earliest extant bilaterian Metazoans, not members of Platyhelminthes. Science 283:1919–1923. doi: 10.1126/science.283.5409.1919
- Taylor DL. (1974) Nutrition of algal-invertebrate symbiosis. I. Utilization of soluble organic nutrients by symbiont-free hosts. Proc R Soc Lond B Biol Sci 186:357–368. doi: 10.1098/rspb.1974.0054
- Winsor L. (1990) Marine turbellaria (Acoela) from north Queensland. Memoirs of the Queensland Museum 28:785–800.
- Yamasu T. (1982) Five new species of Acoela flat worms from Japan. Galaxea 1:29–43.