

分子生物学的手法を用いた 天津小湊海域における線虫類の群集構造解析

奥 俊輔

1. はじめに

線形動物門は一般的に線虫類と呼ばれ、陸域から深海まで広く高密度に分布し、メイオベントスにおいて常に優占する分類群である(鬼頭, 1984; 辻野ら, 2014)。また、栄養の循環や堆積物の安定化などの役割を果たしており、生態系において必要不可欠な存在である(Snelgrove *et al.*, 1997)。線虫類の種数は記載種で27,000 (Hugot *et al.*, 2001)、未記載種も含めると100万から1億と見積もられており (Bik *et al.*, 2010)、多様性の高い分類群である。さらに、線虫類は下位の同一分類群においても食性が異なり、デトリタス食から附着生物食、肉食まで多岐に渡る (Wieser, 1953)。このため、群集構造がその生息場の環境を反映していると考えられており、群集構造(種組成や食性型組成など)の違いを環境評価の指標とすることが提案されている (Tita *et al.*, 2002)。

線虫類は微小で多様性に富んでいるため、形態観察による分類には経験と知識が必要であり、時間と労力を要する。そのため、近年では分子生物学的手法(遺伝子情報)を用いて線虫類の群集構造を解析する研究がみられるようになった。遺伝子情報を用いた手法ではDNAの塩基配列情報の蓄積が必須であるが、研究数はそれほど多くなく、情報が不足していることが指摘されている (Bik *et al.*, 2010)。特に、日本沿岸海域における報告例は極めて少ない (辻野ら, 2014)。

千葉県鴨川市天津小湊地先(以下、天津小湊海域)は房総半島太平洋側に位置し、外海の影響を受ける開放的な湾である。湾内の海底はほぼ一様に砂底であるが、湾口付近は鴨川沖海底谷の縁辺部が入り込んでいるため急激に深くなり泥底となっている(星野・佐藤,

1960)。また、海岸部には岩礁、河口、砂浜があり変化に富んだ環境が存在する。このような海域は場所によって堆積物の粒度組成が大きく異なることから、線虫類の群集構造も大きく異なることが予想される。そこで、本研究では天津小湊海域を対象に、遺伝子情報を用いて線虫類の種査定と群集構造の評価を行うとともに、堆積物の粒度組成の違いにより線虫類の群集構造(種組成や食性型組成など)がどのように変化するかについての議論を行った。

2. 材料と方法

2. 1. 試料採取

2017年4月17日～19日に天津小湊海域のSt. 1、St. 2およびSt. 3の3調査地点で堆積物(試料)を採取した(図1)。調査地点の位置や水深などの情報を表1に示し

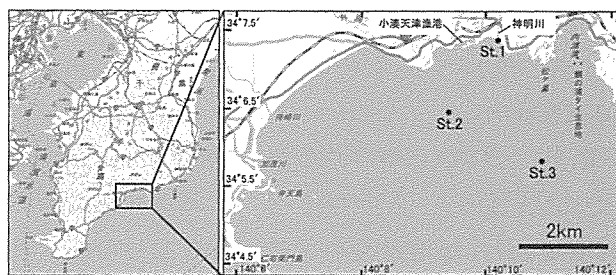


図1 調査地点
国土地理院の電子地形図25000『地理院地図(新版)』を使用した。

表1 調査地点の概要

調査地点	St. 1	St. 2	St. 3
調査年月日	2017/4/19	2017/4/17	2017/4/17
緯度	35°07'22.6"N	35°06'27.1"N	35°05'49.8"N
経度	140°10'13.6"W	140°09'25.4"W	140°10'56.1"W
水深 (m)	調査時干出	20.8	75.0

た。St.1においては口径2.8 cmの柱状コアを用いて採泥し、生物分析用試料については深さ3 cmを3回、粒度組成分析用試料については500 g程度を採取した。St.2とSt.3においてはスミス・マッキンタイヤ型採泥器で採泥し、生物分析用試料については口径2.8 cmの柱状コアを用いて深さ3 cmを3回、粒度組成分析試料については500 g程度を分取した。採取した試料のうち、生物分析用試料については最終濃度70%になるようにエタノールを加えて実験室に持ち帰り冷蔵保存した。粒度組成分析用試料については常温で持ち帰った。

2. 2. DNAの塩基配列の決定

生物分析用試料を32 μm のふるい上にあけてエタノールを水に置換した後、50 ml遠沈管に移し、生物と堆積物を分離させるためコロイド状シリカ (LUDOX HS-40; SIGMA-ALDRICH社) を加えて密度勾配遠心分離を行った。生物側の分画 (上澄み液) を再度32 μm のふるいに移し、実体顕微鏡下で線虫類の個体計数と各地点最大50個体の短径および長径の測定 (後にFeller & Warwick, 1988の方法による体積と炭素現存量の算出) を行った。その後、遺伝子情報に基づく種査定用として各地点35個体を上限に線虫類をピンセットまたは針を用いて無作為に採取し、10倍希釈した10 \times Ex Taq Buffer (20 mM Mg²⁺ plus) (TaKaRa社) を10 μL ずつ分注した8連PCRチューブに、1チューブに1個体ずつ浸漬した。次に、8連PCRチューブにProteinase K (TaKaRa社) を加えてタンパク質を溶解した後、Gene Releaser (BioVentures社) を用いてDNAを抽出した。

抽出したDNAについては、PCR法により核DNAの18SrRNA領域の一部を増幅した。この際のPCR条件は、94°Cで2分の初期熱変性の後、94°C 30秒の熱変性→57°C 30秒のアニーリング→72°C 60秒の伸長反応のサイクルを37回行い、最後に72°Cで10分間の伸長反応を行うこととした。プライマーにはBhadury *et al.* (2006) のMN18F (5' -CGCGAATRGCTCATTACAACAGC-3') および18S_R (5' -GGGCGGTATCTGATCGCC-3') を、反応酵素にはPremix ExTaq HS ver. (TaKaRa社) を用いた。

PCR産物については、2.0%アガロースゲルを用いた

電気泳動法にて増幅を確認し、Illustra Exostar (GE Healthcare社) による精製後、DNAシーケンサー (3730xl DNA Analyzer; Thermo Fisher Scientific社) を用いて塩基配列を決定した (シーケンシングに関しては株式会社北海道システムサイエンスに委託した)。

2. 3. 遺伝子情報に基づく種の査定

決定した塩基配列について、アライメントソフト: BioEdit上のClustalW (Thompson *et al.*, 1994) を用いてアライメントを行い、すべての配列の長さを合わせた後、NCBIのBlastによる相同性検索を行った。各個体の塩基配列と相同性が最も高かった個体の既知塩基配列に、外群として線虫類に近縁の類線形動物門ハリガネムシ科の2生物 *Paragordius tricuspidatus* (accession number: AF421771) と *Chordodes morgani* (accession number: AF036639) の塩基配列を合わせて再度アライメントを行った後、遺伝子解析ソフト: MEGA7上で最尤法により分子系統樹を作成した。

種の査定に関しては、Holovachov *et al.* (2017) において、相同性99%一致で同一種、96.5%以上で同一属、90%以上で同一科、84%以上で同一目とする基準が示されている。本研究でもこの基準をもとに査定を行い、分子系統樹を参照することで査定結果の妥当性を確認した。なお、分子系統樹による査定の妥当性確認では、対象とする個体についてグループ (目や科) 内での位置関係を確認し、明らかにかけ離れたクレード (分岐群) に存在した場合にはその個体の査定をより上位の分類群で止める措置をとった。

2. 4. 類似度解析および多様性解析

各地点における種の査定結果 (種ごとの出現割合) と個体密度を基に、解析ソフト: PRIMER version 7上で各地点間のBray-Curtisの類似度 (以下、類似度)、地点ごとにシャノンの多様度H' (loge) およびシンプソンの多様度1- λ' を算出した。

2. 5. 食性型の判別

線虫類を食性型で分ける際の基準はWieser (1953) によって定義されており、これに基づいて様々な研究で属あるいは科ごとに食性が分けられている (鬼頭,

1984; Kennedy, 1994; Moens *et al.*, 1999; 寒川ら, 2008; Tomas & Lana, 2011; 辻野・内田, 2011; Tahseen, 2012; Urban-Malinga *et al.*, 2014; Pape *et al.*, 2013; 梅本・木村; 2016)。本研究では、これらの研究で得られた情報と出現した生物を照らし合わせて、Wieser (1953) の基準に従って出現種類ごとの食性を決定した。以下に各食性型名とその特徴を示す。なお、食性の特徴については鬼頭 (1984) で和訳されたものを引用した。

- 1A: selective deposit feeders、口腔の発達が悪く、咽頭の吸引力により柔らかく小さな沈積物を食す。
- 1B: non-selective deposit feeders、口腔を持つが歯状構造はなく、咽頭の吸引力に加えて口唇と口腔の動きにより大きな物を食す。
- 2A: epigrowth feeders、口腔には小さいが歯状構造物があり、基質表面のバクテリア被膜や微小藻類などをかき取ったり、珪藻類などの細胞内容物を吸う。
- 2B: predators/omnivores、一般によく発達した口腔内に強大な歯状構造物を持ち、小動物を捕食したり、沈積物や藻類などを食す。

2. 6. 粒度組成の分析

日本工業規格で規定された方法 (JIS A 1204: 2000) で堆積物の粒度組成を分析した。

3. 結果

3. 1. 線虫類の群集構造

遺伝子情報に基づいて種の査定を行った線虫類の分子系統樹を図2に示し、群集構造に関する情報を表2にまとめた。また、出現した目ごとの個体数比を図3に示した。

採集した線虫類の総個体数はSt.1で4個体、St.2で150個体、St.3で799個体であった。このうち、St.1では4個体 (全個体)、St.2では35個体、St.3では35個体の合計74個体を種査定用に分取した。これらについて種査定を行ったところ、DNAの増幅が確認でなかったものが1個体 (St.3)、塩基配列が決定できなかったものが3個体 (St.3) あった。最終的に種の査定がで

きた個体は70個体であり、その内訳は7目、13科、52種で、種名まで明らかとなったのは2種4個体であった。このうち、St.1では1目、1科の2種 (4個体)、St.2では6目、8科の23種 (35個体)、St.3では7目、9科の28種類 (31個体) が出現した。

各地点の出現状況の特徴としては、St.1では出現個体が4個体と少ないこともあるが、すべての個体がEnoplida目Thoracostomopsidae科 (*Enoploides* sp. と *Mesacanthoides* sp.) であり、いずれもこの地点でのみ出現する種であった。St.2ではMonhysterida目のXyalidae科の生物が多く、全体の約35%を占めていた。St.3では特定の種類が多いという傾向はなかったが、Chromadorida目とAraeolaimida目の生物がやや多くみられた。個体密度については、St.1で最も低く2個体/10 cm²、St.2では81個体/10 cm²、St.3では432個体/10 cm²と沖側の深い地点ほど高くなった。各地点の1個体当たりの平均体積はSt.1で最も大きく1.1 × 10⁻³ mm³、St.2では4.3 × 10⁻⁴ mm³、St.3では2.4 × 10⁻⁴ mm³と沖側の深い地点ほど小さくなる傾向にあった。各地点における線虫類の炭素現存量は、St.1で最も少なく0.24 μg C/10 cm²、St.2では4.0 μg C/10 cm²、St.3では12 μg C/10 cm²と沖側の深い地点ほど多くなる傾向にあった。地点間の類似度は、すべての地点間で3%未満と低かった。また、シャノンの多様度H' (log_e) およびシンプソンの多様度1-λ' はともにSt.1で低く、St.2とSt.3ではほぼ同等であった。

線虫類の食性型ごとの個体数比を図4に示した。

St.1ではすべての個体が発達した口腔を持つ大型の捕食型 (2B) であった。St.2では口腔を持つタイプの沈積物食者 (1B) が54%と多かった。St.3では、食性型を特定できなかった種が39%と多く、口腔が未発達な沈積物食タイプ (1A; 23%) と口腔を持つ沈積物食タイプ (1B; 19%)、歯状構造を持ち微小な付着生物などを食べるタイプ (2A; 19%) の三つがほぼ同数で出現し、捕食/雑食型 (2B) の種はみられなかった。

3. 2. 各地点の堆積物の粒度組成

粒度組成の分析結果を図5に示した。

St.1は神明川河口付近の潮間帯域に位置し、試料採取時には干出した状態であった。粒度組成については

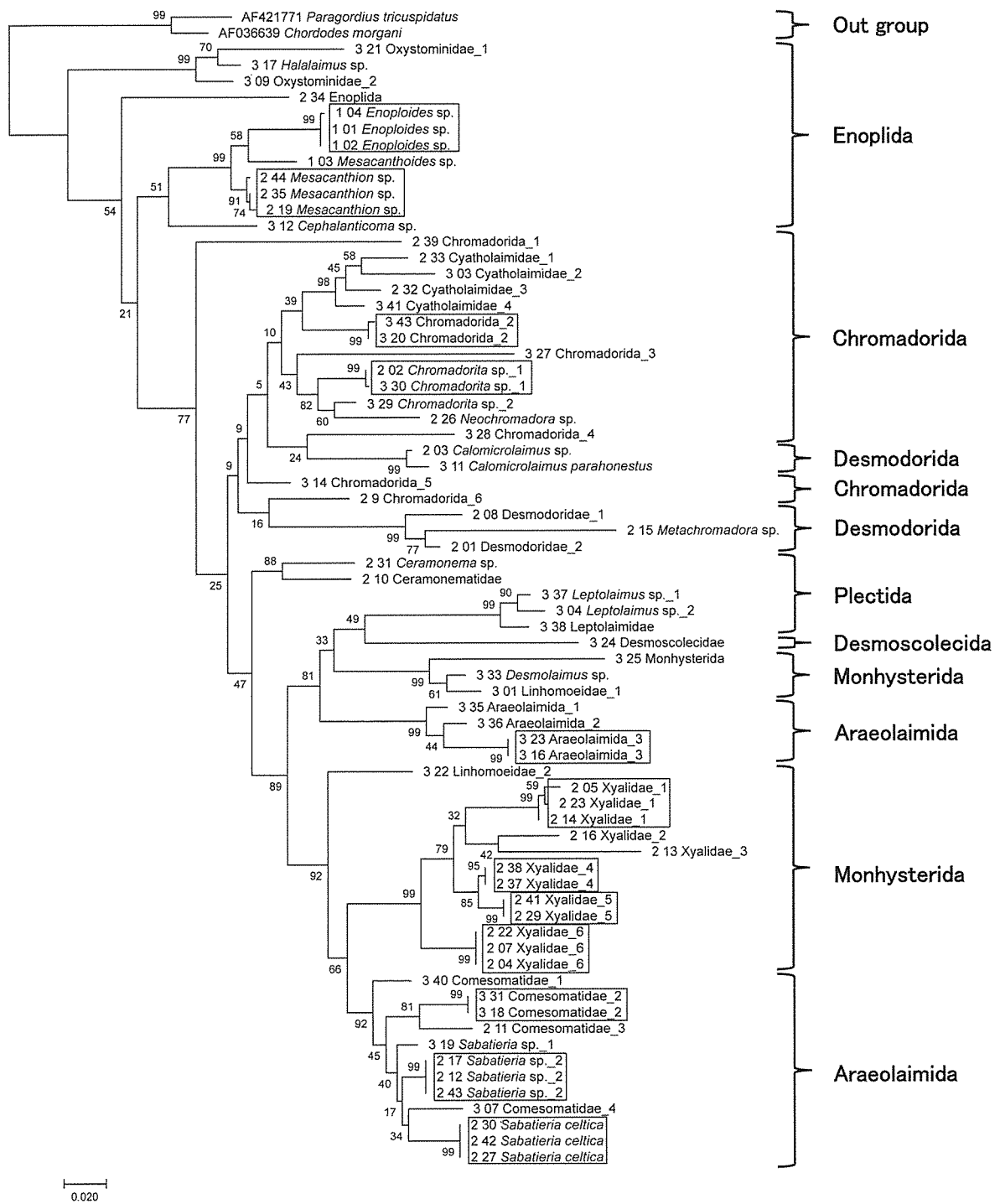


図2 最尤法による線虫類の分子系統樹

外群 (Out group) には、線虫類に近縁の類線形動物門ハリガネムシ科の2生物 *Paragordius tricuspidatus* (accession number ; AF421771) と *Chordodes morgani* (accession number ; AF036639) を使用した。分枝部の数値はブートストラップ確立 (%) を、枝長のスケールは配列間の遺伝的距離を示す。

中砂 (94%) と粗砂 (4.5%) がほぼ99%を占めており、粒径の比較的大きい砂底であった。St. 2は水深20 m程度の湾内中央部に位置し、細砂が90%以上を占めるような細砂底であった。St. 3は湾口の鴨川沖海底谷の縁

辺部 (海底谷に続く斜面上部) に位置し、水深は75 m、粒度組成については細砂 (63.6%) とシルト (25.4%) が約90%を占めており、シルトの混在する細砂底であった。

表2 線虫類の群集構造に関する情報

綱 (亜綱)	目	遺伝子情報に基づく種の査定結果		食性 ^{#1}	調査地点ごとの個体数				
		科	種		St.1	St.2	St.3		
Adenophorea (Enoplia)	Enoplida	Anticomidae	<i>Cephalanticoma</i> sp.	2A			1		
		Thoracostomopsidae	<i>Enoploides</i> sp.	2B	3				
			<i>Mesacanthoides</i> sp.	2B	1				
			<i>Mesacanthion</i> sp.	2B		3			
			Oxystominidae	<i>Halalaimus</i> sp.	1A			1	
			Oxystominidae_1	1A			1		
			Oxystominidae_2	1A			1		
		-	Enoplida	-		1			
		Adenophorea (Chromadoria)	Desmoscolecida	Desmoscolecidae	Desmoscolecidae	1A			1
			Chromadorida	Chromadoridae	<i>Chromadorita</i> sp._1	2A		1	1
<i>Chromadorita</i> sp._2	2A						1		
<i>Neochromadora</i> sp.	2A					1			
Cyatholaimidae	Cyatholaimidae_1				2A		1		
	Cyatholaimidae_2			2A			1		
	Cyatholaimidae_3			2A		1			
	Cyatholaimidae_4			2A			1		
-	Chromadorida_1			-		1			
	Chromadorida_2			-			2		
	Chromadorida_3			-			1		
	Chromadorida_4			-			1		
	Chromadorida_5			-			1		
	Chromadorida_6			-		1			
Desmodorida	Desmodoridae			<i>Metachromadora</i> sp.	2A		1		
				Desmodoridae_1	-		1		
				Desmodoridae_2	-		1		
	Microlaimidae			<i>Calomicrolaimus parahonestus</i>	2A		1		
				<i>Calomicrolaimus</i> sp.	2A			1	
Monhysterida	Linhomoeidae		<i>Desmolaimus</i> sp.	1B			1		
			Linhomoeidae_1	-			1		
			Linhomoeidae_2	-			1		
	Xyalidae		Xyalidae_1	1B		3			
			Xyalidae_2	1B		1			
			Xyalidae_3	1B		1			
			Xyalidae_4	1B		2			
			Xyalidae_5	1B		2			
			Xyalidae_6	1B		3			
	-		Monhysterida	-			1		
Araeolaimida	Comesomatidae	<i>Sabatieria celtica</i>	1B		3				
		<i>Sabatieria</i> sp._1	1B			1			
		<i>Sabatieria</i> sp._2	1B		3				
		Comesomatidae_1	1B			1			
		Comesomatidae_2	1B			2			
		Comesomatidae_3	1B		1				
		Comesomatidae_4	1B			1			
		-	Araeolaimida_1	-			1		
		Araeolaimida_2	-			1			
		Araeolaimida_3	-			2			
	Plectida	Ceramoneumatidae	<i>Ceramoneuma</i> sp.	1A		1			
Ceramoneumatidae			1A		1				
Leptolaimidae		<i>Leptolaimus</i> sp._1	1A			1			
		<i>Leptolaimus</i> sp._2	1A			1			
		Leptolaimidae	1A			1			
	NEMATODA ^{#2}				4				

表2 線虫類の群集構造に関する情報 (続き)

綱 (亜綱)	遺伝子情報に基づく種の査定結果			食性 ^{※1}	調査地点ごとの個体数		
	目	科	種		St.1	St.2	St.3
			個体数		4	35	35
			種数 ^{※3}		2	23	28
			項目		調査地点		
					St.1	St.2	St.3
			個体密度 (個体数/10cm ²)		2	81	432
			1個体当たりの平均体積 (mm ³) ^{※4}		1.1 × 10 ⁻³	4.3 × 10 ⁻⁴	2.5 × 10 ⁻⁴
			炭素現存量 (μg C/10cm ²) ^{※4}		0.24	4.0	12
			Bray-Curtisの類似度 (%)		2.4 (対St.2)	1.3 (対St.3)	0.46 (対St.1)
			シャノンの多様度H' (log _e)		0.56	3.0	3.3
			シンプソンの多様度1-λ		0.75	0.96	0.96

※1: Wieser (1953) による。1A: selective deposit feeders, 1B: non-selective deposit feeders, 2A: epigrowth feeders, 2B: predators/omnivores.

※2: 遺伝子情報を得られなかったものを示す。

※3: NEMATODA以外の種数を示す。

※4: 体積および炭素現存量の算出方法は Feller and Warwick (1988) による。

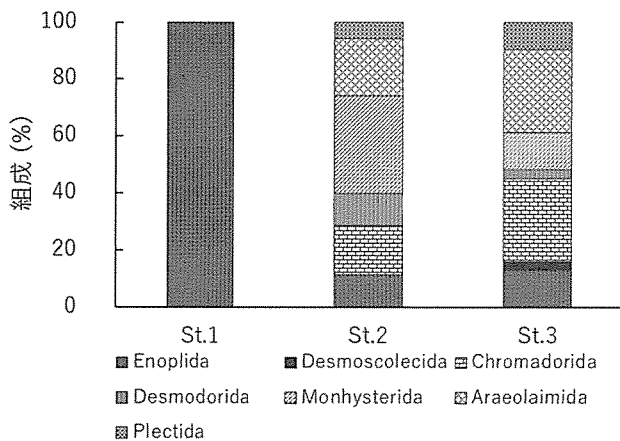


図3 線虫類の目別の個体数組成

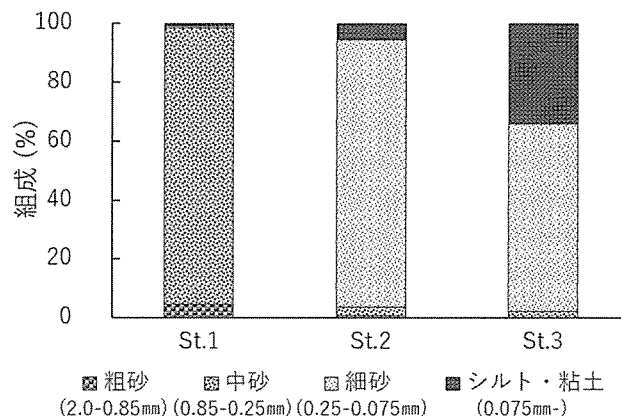


図5 各調査地点における堆積物の粒度組成

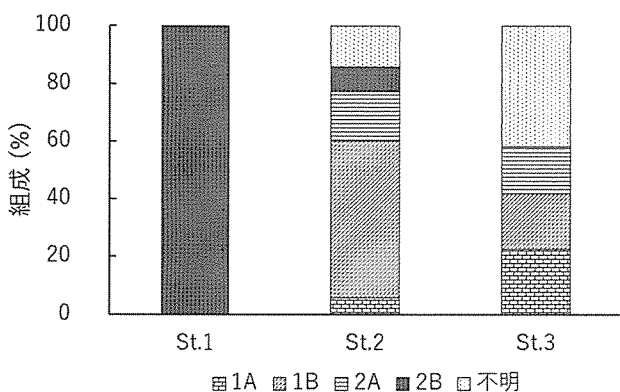


図4 線虫類の食性型別の個体数組成
食性型は Wieser (1953) による。1A: selective deposit feeders、1B: non-selective deposit feeders、2A: epigrowth feeders、2B: predators/omnivores.

4. 考察

4. 1. 遺伝子情報に基づく種査定の課題

種査定結果の妥当性を確認するために作成した分子系統樹は、形態による分類情報 (Schmidt-Rhaesa, 2014) と概ね一致した。しかし、この分子系統樹では、一部の種が異なるグループのクレード内に混在するような状況がみられた。*Calomicrolaimus parahonestus*と *Calomicrolaimus* sp.とした2種は Desmodorida 目であるが、この分子系統樹では Chromadorida 目のクレードに含まれていた。反対に、Chromadorida 目の2種2個体が Desmodorida 目のクレード内に含まれていた。また、Monhysterida 目に Araeolaimida 目の4種4個体が含まれていた。既知の塩基配列情報が十分でないこと

が原因である可能性が考えられるが、形態分類で同じ分類群とされていたものが遺伝子レベルでは別のグループであることなども考えられる。Meldal *et al.* (2007) は18SrRNA 遺伝子の系統解析による分類と形態分類との整合性の問題を指摘しているが、これら不一致の原因については現時点では不明である。形態分類と遺伝子による分類との差異を明らかにするためにも、今後研究を進めていく必要がある分野だと考えられる。

4. 2. 群集構造の特徴

3地点の群集構造には大きな違いがみられた。特に種組成については地点間で重複して出現した種が *Chromadorita* sp._1 の1種のみで、地点間の類似度も0.24~2.4%と非常に低かった。また、地点間では堆積物の粒子サイズが小さいほど個体密度・種数が多く、個体サイズ(体積)が小さいという関係がみられた。これらのことを踏まえて、以下で各地点における群集構造の特徴をみていく。

St.1は他の2地点と比べて、個体密度・種数が非常に少なく、捕食性(2B)の大型線虫類(Enoplida目Thoracostomopsidae科)のみで構成されるような特異的な群集構造を有していた。これは、干出と冠水を繰り返す潮間帯という特殊な環境と堆積物の粒径が比較的大きかったことが関係していると考えられる。岩手県の大槌湾における研究でも海水によって攪乱される粗砂質堆積物中では大型種が多いことが報告されている(金・白山, 1996)。大型種が多かった理由は、St.1のような粒子サイズが大きい砂浜潮間帯の堆積物中では間隙が大きく波浪や潮流の影響を受けやすいため小型種は定位置での生活が困難であり、間隙中に体を固定できる大型種のみが選択的に残ったのではないかと考えられる。また、沈積物食者、藻類・バクテリア食者がみられなかったのは、波浪や潮流の影響で餌料となるデトリタスが堆積しにくく、堆積物の攪乱や様々な環境変化によって珪藻やバクテリアなどの付着生物が生息しにくい環境であったことが主な要因ではないかと推察される。

St.2とSt.3については、両地点を比較しながらみていく。

種組成の特徴については、St.2ではXyalidae科の線虫類が多く、それらを餌とすることが知られている大型捕食種の *Mesacanthion* sp. (金・白山, 1996) もみられたことから、Xyalidae科の線虫類を中心とした群集構造が形成されていることが推察される。一方、St.3では特定の種が多いという傾向はみられず、種数も28種と多かった。また、個体密度も3地点で最も高かった。Moens *et al.* (2014) によると、大陸斜面上部は線虫類の種数が多く、多様性の高い場所であるとされている。鴨川沖海底谷斜面上部に位置するSt.3で種数や個体密度が高かったのは、海洋表層から沈降してきた植物プランクトンや斜面を通して水平的に輸送される分解途中の有機物(Inthorn *et al.*, 2006) など形状や形態の異なる様々な餌が多く供給されてくることが要目として推察される。

次に食性型組成を比較すると、St.2はXyalidae科やComesomatidae科など口腔を持ち比較的大型の沈積物を食すタイプ(1B)が優占するのに対して、St.3では食性型1A、1B、2Aがほぼ同数出現しており一つの食性型が優占するという傾向はみられなかった。また、St.2に比べてOxystominidae科やLeptolaimidae科などの口腔が発達していないタイプ(1A)の割合が高かった。この2地点間での食性型組成の違いは、堆積物の粒度組成の違いによるものと考えられる。1Aタイプは口腔が発達していないので小さい餌しか摂食できない。このため、St.2と比べてシルト粘土の割合が高いSt.3で1Aタイプが多かったと考えられる。一方、St.2ではシルト粘土が少ない細砂底であることから、1Aタイプが少なく、より大きなものを摂食できる1Bタイプが卓越したと考えられる。これらの傾向は、三重県田中川干潟(梅本・木村, 2016)や広島湾(辻野, 1998)でもみられていることから、線虫類の群集構造が生息場の堆積物の粒度組成を反映していたと考えられる。

5. おわりに

本研究では、まず遺伝子情報(塩基配列)により、目から種レベルでの査定が可能であることを確認し、生息している線虫類の群集構造をある程度理解することができた。また、3地点における線虫類の群集構造は、各地点の水深など場の特徴や堆積物の粒度組成を

よく反映したものであると考えられた。

今回は調査地点や種査定個体数が少なく、天津小湊海域の線虫類の群集構造を明らかにしたとはいえない。また、生息場を特徴づける環境項目も堆積物の粒度組成のみと少なく、底質を十分考慮した群集構造の評価ができなかった。今後の展開としては、調査地点数や種査定個体数を増やしたうえで線虫類の分布に影響を与えると考えられる有機物量や硫化水素濃度、酸化層の厚さなどの環境項目測定を追加し、底質を考慮した線虫類の群集構造の評価を行う必要がある。

参考文献

- Bhadury, P., Austen, M. C., Bilton, D. T., Lamshead, P. J. D., Rogers, A. D. and Smerdon, G. R. 2006. Development and evaluation of a DNA-barcoding approach for the rapid identification of nematodes. *Marine Ecology Progress Series*, 320: 1–9.
- Bik, H. M., Lamshead P. J. D, Thomas, W. K. and Lunt, D. H. 2010. Moving towards a complete molecular framework of the Nematoda: a focus on the Enoplida and early-branching clades. *BMC Evolutionary Biology*, 10: 353.
- Feller, R. J. and Warwick, R. M. 1988. Energetics. In: Higgins, R. P. and Thiel, H. (eds.), *Introduction to the Study of Meiofauna*, Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., pp. 181–196.
- Holovachov, O., Haenel, Q., Bourlat, S. J. and Jondelius, U. 2017. Taxonomy assignment approach determines the efficiency of identification of OTUs in marine nematodes. *Royal society open science*, 4: 170315.
- 星野通平・佐藤任弘. 1960. 房総半島鴨川沖海底谷の地形と底質について. 第四紀研究, 1: 228–237.
- Hugot, J. P., Baujard, P. and Morand, S. 2001. Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview. *Nematology*, 3: 199–208.
- Inthorn, M., Wagner, T., Scheeder, G. and Zabel, M. 2006. Lateral transport controls distribution, quality, and burial of organic matter along continental slopes in high-productivity areas. *Geology*, 34: 205–208.
- Kennedy, A. D., 1994. Carbon partitioning within meiobenthic nematode communities in the Exe Estuary, UK. *Marine Ecology Progress Series*, 105: 71–78.
- 金 東成・白山義久. 1996. 大槌湾潮下帯の粗砂底に生息するメイオベントス群集の季節変動—特に線虫類を中心として—. *Benthos Research*, 51: 9–20.
- 鬼頭研二. 1984. 海産自由生活性線虫類の食性型と群集解析. *Benthos Research*, 26: 23–30.
- Meldal, B. H. M., Debenham, N. J., Ley, P. D., Ley, I. T. D., Vanfleteren, J. R., Vierstraete, A. R., Bert, W., Borgonie, G., Moens, T., Tyler, P. A., Austen, M. C., Blaxter, M. L., Rogers, A. D. and Lamshead, P. J. D. 2007. An improved molecular phylogeny of the Nematoda with special emphasis on marine taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42: 622–636.
- Moens, T., Braeckman, U., Derycke, S., Fonseca, G., Gallucci, F., Gingold, R., Guilini, K., Ingels, J., Leduc, D., Vanaverbeke, J., Colen, C. V., Vanreusel, A. and Vincx, M. 2014. Ecology of free-living marine nematodes. *Handbook of Zoology Gastrotricha, Cycloneuralia and Gnathifera: Volume 2: Nematoda*, De Gruyter, Berlin, pp. 109–152.
- Moens, T., Verbeeck, L. and Vincx, M. 1999. Feeding biology of a predatory and a facultatively predatory nematode (*Enoploides longispiculosus* and *Adoncholaimus fuscus*). 134: 585–593.
- Pape, E., van Oevelen, D., Moodley, L., Soetaert, K. and Vanreusel, A. 2013. Nematode feeding strategies and the fate of dissolved organic matter carbon in different deep-sea sedimentary environments. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 80: 94–110.
- 寒川 浩・下出信次・橋本隆司・菊池知彦. 2008. 相模湾真鶴港内におけるメイオベントスおよび自由生活性線虫類を用いた底質環境の評価法の有効性. 日本ベントス学会誌, 63: 11–22.
- Schmidt-Rhaesa, A. 2014. Outline on nematode phylogeny. *Handbook of Zoology Gastrotricha, Cycloneuralia and Gnathifera: Volume 2: Nematoda*, De Gruyter, Berlin, pp. 171–172.
- Snelgrove, P. V. R., Blackburn, T. H., Hutchings, P. A., Alongi, D. M., Grassle, J.F., Hummel, H., King, G., Koike, I., Lamshead, P. J. D., Ramsing, N.B. and Solis-Weiss, V. 1997. The importance of marine sediment biodiversity in ecosystem processes. *Ambio*, 26: 578–583.
- Tahseen, Q. 2012. Nematodes in aquatic environments: adaptations and survival strategies. *Biodiversity Journal*, 3: 13–40.
- Thomas, M. C. and Lana, P. C. 2011. A new look into the small-scale dispersal of free-living marine nematodes. *Zoologia*, 28: 449–456.
- Thompson, J. D., Higgins D. G. and 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.
- Tita, G., Desrosiers, G., Vincx, M. and Clement, M. 2002. Intertidal meiofauna of the St. Lawrence estuary (Quebec, Canada) : diversity, biomass and feeding structure of nematode assemblages. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 82: 779–791.
- 辻野 陸. 1998. 広島湾の自由生活性線虫類の分布と底質環境. 南西水研研報, 31: 25–32.
- 辻野 陸・三好達夫・内田基晴. 2014. 18S rRNA 遺伝子による広島湾潮間帯域における海産自由生活性線虫類の遺伝的解析. 日本水産学会誌, 80: 16–20.
- 辻野 陸・内田基晴. 2011. 堆積アオサが表層性のメイオベントスに及ぼす影響. 日本ベントス学会誌, 65: 90–97.
- Urban-Malinga, B., Drgas, A., Gromisz, S., Barnes, N. 2014. Species-specific effect of macrobenthic assemblages on meiobenthos and nematode community structure in shallow sandy sediments. *Marine Biology*, 161: 195–212.
- 梅本祥平・木村妙子. 2016. 三重県田中川干潟における自由生活性線虫類の組成と分布. 日本ベントス学会誌, 70: 65–74.
- Wieser, W. 1953. Die Beziehung zwischen Mundhöhlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. *Arkiv für Zoologi*, 4: 439–484.