

岩手県小友浦におけるオグマヒモムシ *Nipponnemertes ogumai* (紐形動物門:単針目)の北限記録

阿部博和¹、菅孔太朗¹、松政正俊¹、鈴木孝男²、柘原宏³

¹岩手医科大学 教養教育センター 生物学科、²みちのくベントス研究所、
³北海道大学 大学院理学研究院

Northernmost record of *Nipponnemertes ogumai* (Nemertea: Monostilifera) in Otomo-ura, Iwate Prefecture, Japan

Hirokazu Abe¹, Kotaro Kan¹, Masatoshi Matsumasa¹, Takao Suzuki², Hiroshi Kajihara³

¹Department of Biology, Center for Liberal Arts & Sciences, Iwate Medical University;
²Michinoku Research Institute for Benthos; ³Faculty of Science, Hokkaido University

Abstract

We report a new record of a little-known ribbon worm, *Nipponnemertes ogumai* (Yamaoka, 1947) collected from under a stone at Otomo-ura, Iwate Prefecture, Japan. This species has been recorded only from Japan and the northernmost record being Sado Island on the Sea of Japan side. The northernmost record of this species on the Pacific side was from Hayama, Kanagawa Prefecture, and it was conceded that this species is not likely to be distributed to the north of Cape Inubo, Chiba Prefecture. Our record from Iwate Prefecture largely extends the northern limit of the species. Voucher specimen and a mtCOI sequence newly generated in this study were deposited in the Iwate Prefectural Museum and DDBJ/ENA/GenBank nucleotide sequence database under the registration number 276722 and accession number LC677144, respectively.

はじめに

オグマヒモムシ *Nipponnemertes ogumai* (Yamaoka, 1947) は、体長 10 cm を超える大型のヒモムシ類であり、暖海海浜の砂地転石下に生息するとされている(山岡 1947, Kajihara et al. 2015)。これまでのところ、本種の記録は、新潟県佐渡郡相川町達者(新潟大学佐渡自然共生科学センター臨海実験所 2022)、神奈川県葉山町名島(Iwata 1957, as *Amphiporus reduncus*)、葉山町“Shuragane” [sic] (Iwata 1957, as *Amphiporus retrotumidus*)、三浦市荒井浜(Kajihara et al. 2015)、静岡県下田市(山岡 1947, as *Amphiporus ogumai*, 鈴木 2013)、伊東市(Kajihara et al. 2015)、和歌山県白浜町(山岡 1947, as *Amphiporus ogumai*)、広島県呉市鹿島(Kajihara et al. 2015)の 8 例のみであり、日本国内のみで知られる希少な種であると言える。本種は、太平洋側では千葉県犬

茨城以北には分布していないと考えられていたが(Kajihara et al. 2015)、2021年7月に岩手県陸前高田市の小友浦で採集されたため、ここに報告する。

材料と方法

2021年7月23日に、環境省の令和3年度東北地方太平洋沿岸地域生態系監視調査の事前踏査として、岩手県陸前高田市の小友浦の潮間帯(Fig. 1)で調査を行った。生態系監視調査のB2地点(38°59'46" N、141°40'53" E)付近の転石(直径70 cm程度)をひっくり返したところ、オグマヒモムシ1個体が発見された(Fig. 2A, B)。標本は、現地でコンパクトデジタルカメラ(Olympus TG-4)を用いて生時の写真を撮影したのちに70%エタノールで固定・保存し、後日、一眼レフカメラ(Nikon D850)を用いて標本の撮影を行った。オグマヒモムシの標本は、資料登録番号276722として岩手県立博物館に収蔵した。

標本の同定のため、ミトコンドリア COI 遺伝子の DNA 解析を行った。DNA の抽出は Richlen & Barber(2005) の手法に従い、10%の Chelex 100(Bio-Rad 社)を含む 50 μ l の TE バッファー(pH 8.0) 内にエタノール固定標本の吻から切り出した小組織を入れ、95°C で 20 分間のインキュベーションを行った。PCR は、0.7 μ l の鋳型、8.8 μ l の滅菌蒸留水(DDW)、10 μ l の KOD One PCR Master Mix -Blue-(東洋紡)、各 0.1 μ l のフォワードプライマーとリバースプライマー(濃度 50 μ M)を含む 19.7 μ l の反応液で行い、PCR プライマーには Carr et al.(2011) の polyLCO(GAYTATWTTCAACAAATCATAAAGATATTGG)と polyHCO(TAMACTTCWGGGTGACCAAARAATCA)を使用した。PCR のサイクル条件は、98°C 10 秒、48°C 5 秒、68°C 1 秒の 3 ステップを 40 サイクルとした。PCR 産物は、1.5%アガロースゲルを用いた電気泳動で目的断片長の DNA の増幅の有無の確認を行った後、Enz-Sap(Edge BioSystems 社)で精製を行った。シーケンス解析には PCR と同じプライマーを使用し、Eurofins Genomics 社(東京)によって行われた。フォワードおよびリバースの相補的配列は MEGAX ver.10.2.6(Kumar et al. 2018)を用いてアセンブルを行った。本研究で得られた mtCOI 遺伝子部分配列(659 bp)は、アクセッション番号 LC677144 で DDBJ/ENA/GenBank の国際塩基配列データベースに登録を行い、NCBI(National Center for Biotechnology Information, USA) Web サイト(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)の BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)を用いた相同性検索により国際塩基配列データベースに登録されている塩基配列との比較を行った。

本研究で得られた mtCOI 遺伝子部分配列は DDBJ/ENA/GenBank から取得した *Nipponnemertes* 属の配列とともに MAFFT オンラインサービス ver. 7(Katoh et al. 2017)により L-INS-i アルゴリズムを用いてアライメントを行った。アウトグループには、Kajihara et al.(2015)の系統樹をもとに *Oerstedia dorsalis*(Abildgaard, 1806)の配列(Accession number: AY791971)を使用した。ML 法を用いた分子系統解析は、PhyloSuite v.1.2.2(Zhang et al. 2020)に実装されている IQ-TREE(Nguyen et al. 2015)を用いて行い、塩基置換モデルはベイズ情報量規準(BIC)をもとに ModelFinder(Kalyaanamoorthy et al. 2017)で最適と推定された GTR+F+I+G4 モデルを使用した。ML 系統樹の頑健性は、5000 反復の SH-aLRT 検定(Shimodaira-Hasegawa-like approximate likelihood ratio test)

(Guindon et al. 2010)、aBayes 検定 (approximate Bayes test) (Anisimova et al. 2011)、および 5000 反復の Ultrafast Bootstrap (Minh et al. 2013) によって評価した。



Fig. 1. 小友浦の全景 (A) とオグマヒモムシ *Nipponnemertes ogumai* (Yamaoka, 1947) が採集された地点付近の写真 (B, C) .

結果と考察

オグマヒモムシの外部形態の特徴として、(1) 生時の体色が鮮やかな橙色であること、(2) 頭部の模様 (白いバンドなど) を欠くこと、(3) 頭部の背面中央が盛り上がること、(4) 多くの眼点が頭部の両側で三角形に散在することなどがあげられる (Kajihara et al. 2015, Gonzalez-Cueto et al. 2017)。本研究で採集された個体では、(1) ~ (3) の特徴がみられたが (Fig. 2)、(4) の特徴については固定標本では確認することができなかった。BLAST 検索の結果、本研究で得られた mtCOI 領域の塩基配列は Kajihara et al. (2015) により報告されたオグマヒモムシの配列 (Accession number: AB920907.2) と最も一致率が高く (Per. Ident: 97.97%, Query Cover: 96%)、アミノ酸配列では 100% の一致であった。それ以降の配列では、Andrade et al. (2012) による *Nipponnemertes* sp. 1 (Per. Ident: 90.41%, Query Cover: 99%) を除き、塩基配列の一致率は 90% 以下であった。国内では、相模湾や白浜、沖縄で見ついている未確定種 (Kajihara 2017) を除くと、オグマヒモムシのほかに、リシリヒモムシ *Nipponnemertes bimaculata* (Coe, 1901) とマダラヒモムシ *Nipponnemertes*

punctatula (Coe, 1905) の 2 種の *Nipponnemertes* 属が知られているが (Kajihara 2007)、この 2 種は頭部に白いバンド状の模様を持つためオグマヒモムシとは明瞭に区別される (Kajihara 2017)。また、本研究で得られた mtCOI の配列は、DDBJ/ENA/GenBank に登録されているリシリヒモムシとマダラヒモムシの配列とは大きく異なっていた (Fig. 3)。以上の結果から、本研究で採集された標本はオグマヒモムシであると判断された。今回採集された標本の大きさは、固定時で体長約 12.8 cm、最大体幅約 9.8 mm であり、山岡 (1947) の標本 (体長: 6~7 cm、体幅: 7~9 mm) や Kajihara et al. (2015) の生時の標本 (体長: 9.5~11 cm、体幅 8~15 mm) と比べても大型の個体であった。

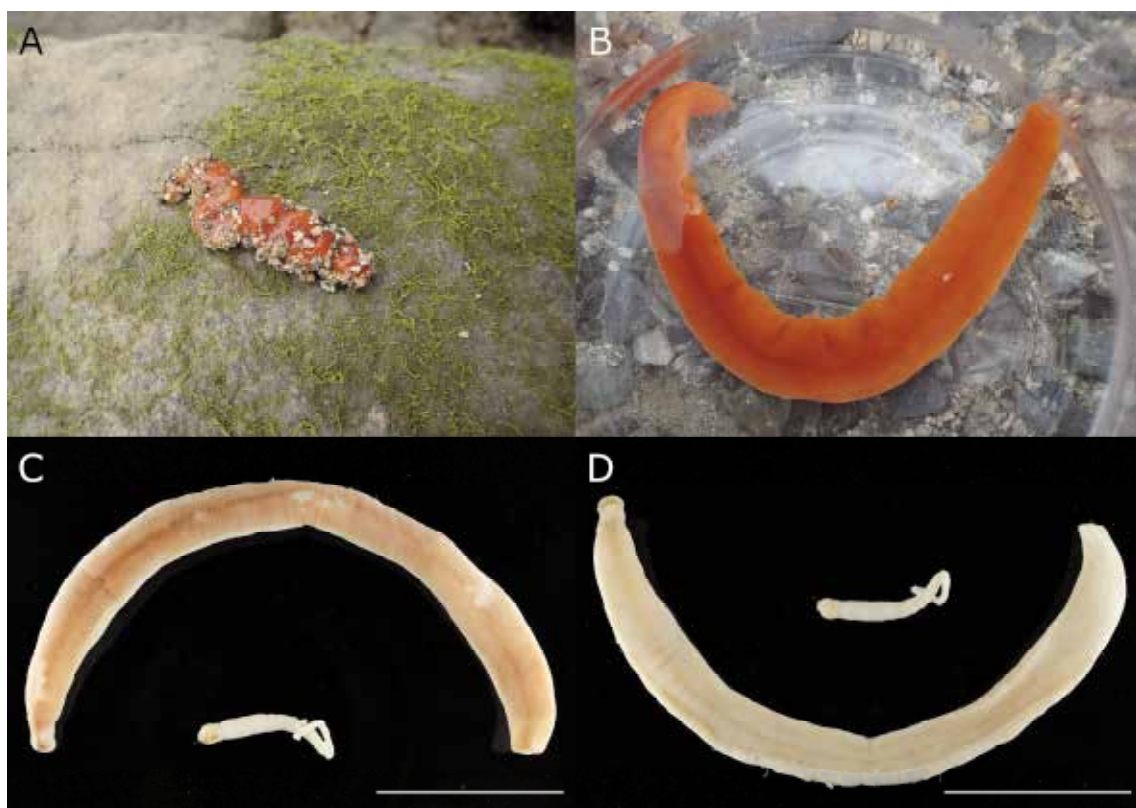


Fig. 2. オグマヒモムシ *Nipponnemertes ogumai* (Yamaoka, 1947) (資料登録番号 276722) の標本写真. A, B: 採取時に現地で撮影した生時の写真. C, D: 固定標本の背面 (C) および腹面 (D) の写真. 固定時に虫体から分離した吻も示す. スケール=3 cm.

オグマヒモムシのこれまでの記録の北限は佐渡島であったが、佐渡には三崎や小友浦産の標本と COI 遺伝子の塩基配列が 7% 程度異なる隠蔽種が存在することが明らかになっており (波々伯部氏 私信)、この記録がオグマヒモムシのものであるかどうかは検証を要すると言える。太平洋側では神奈川県葉山町以北では本種の記録がなかったが、今回岩手県小友浦から発見されたことで北限記録が大幅に更新されることになった。小友浦は、1960 年最初の干拓事業によって埋め立てられ、約 50 年後の東北地方太平洋沖地震による大津波によって干潟に戻った場所である。この小友浦では 2012 年以降著者らにより毎年調査が行われてきたが (松政他 2015; 松政 2016, 2019; Matsumasa & Kinoshita 2016; 阿部他 2020)、これまでオグマヒモムシが見つかることはなかった。本種は暖水性種と考えら

れているため(山岡 1947、Kajihara et al. 2015)、今回の発見が温暖化による分布北進の結果である可能性も否定できない。しかしながら、これまでの記録の多くが潜水やドレッジで採集されたものであることを考えると、本種の主な生息域は潮下帯であると思われ、大きな石の下に生息するという性質からこれまで発見される機会がなかった可能性も考えられる。小友浦産と神奈川県荒井浜産(AB920907.2)のオグマヒモムシの間で mtCOI 領域の塩基配列が 2% 程度異なるという結果は(Fig. 3)、個体群間で地理的な遺伝的分化が生じていることを示し、東北地方の海域に古くから本種の個体群が存在することを示唆しているのかもしれない。

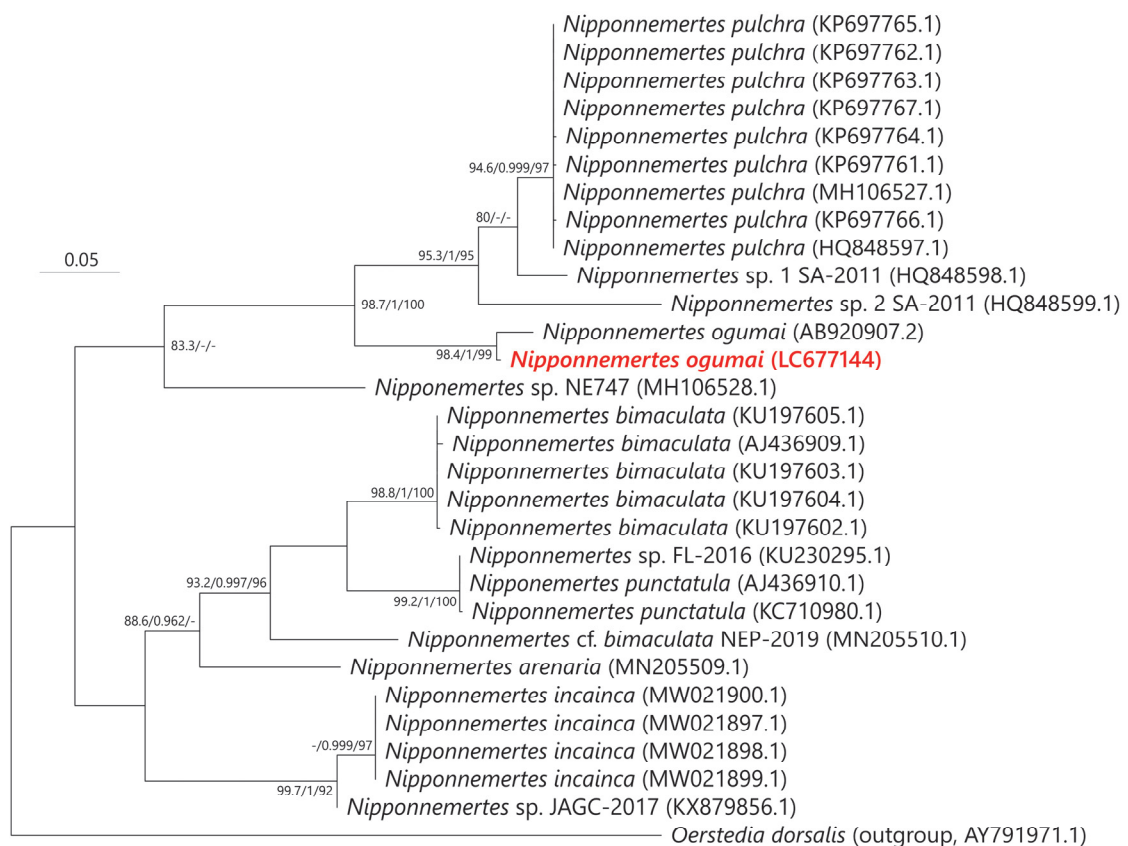


Fig. 3. 本研究および DDBJ/EMBL/GenBank データベースから得られた *Nipponnemertes* 属の mtCOI 遺伝子塩基配列から推定された ML 系統樹。各配列のアクセッション番号は括弧内に示し、本研究で得られた配列は赤太字で示した。80%/0.95/95% 以上の SH-aLRT/aBayes/ultrafast bootstrap の値は各ノード付近に記した。スケールバーは座位あたりの置換数を示す。

謝辞

中村仁氏、井上隆氏、川合学氏(環境省生物多様性センター)、北野慎容氏、吉田美沙希氏(三洋テクノマリン)にはフィールド調査にご助力いただいた。京都大学瀬戸臨海実験所の小林元樹氏には、文献の収集にご協力いただいた。東京大学三崎臨海実験所の波々伯部夏美氏には、国内の *Nipponnemertes* 属の分子系統解析についての最新の情報

をご提供いただいた。岩手県立博物館の渡辺修二氏には、標本の収蔵についてご快諾いただいた。陸前高田市には調査の機会を与えていただいた。この場を借りて厚く御礼申し上げます。本研究は、環境省「令和3年度東北地方太平洋沿岸地域生態系監視調査業務」の一環として行われた。

引用文献

- 阿部博和、松政正俊、木下今日子、鈴木孝男、金谷弦 (2020) 広田湾小友浦における 2018 年干潟ベントス調査の報告 (東北地方太平洋沿岸地域生態系監視調査の補足調査). *みちのくベントス* 4: 22–31.
- Andrade SCS, Strand M, Schwartz M, Chen H-X, Kajihara H, von Döhren J, Sun S-C, Junoy J, Thiel M, Norenburg JL, Turbeville JM, Giribet G, Sundberg P (2012) Disentangling ribbon worm relationships: multi-locus analysis supports traditional classification of the phylum Nemertea. *Cladistics* 28: 141–159.
- Anisimova M, Gil M, Dufayard JF, Dessimoz C, Gascuel O (2011) Survey of branch support methods demonstrates accuracy, power, and robustness of fast likelihood-based approximation schemes. *Systematic Biology* 60: 685–699.
- Carr CM, Hardy SM, Brown TM, Macdonald TA, Hebert PDN (2011) A tri-oceanic perspective: DNA barcoding reveals geographic structure and cryptic diversity in Canadian polychaetes. *PLoS ONE* 6: e22232.
- Gonzalez-Cueto J, Castro LR, Quiroga S (2017) *Nipponnemertes incainca* sp. n. Adoption of the new taxonomic proposal for nemerteans (Nemertea, Cratenemertidae). *ZooKeys* 693: 1–15.
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O (2010) New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59: 307–321.
- Iwata F (1957) Nemerteans from Sagami Bay. *Publications from the Akkeshi Marine Biological Station* 7: 1–31 + plates I–VII.
- Kajihara H (2007) A taxonomic catalogue of Japanese nemerteans (Phylum Nemertea). *Zoological Science* 24: 287–326.
- Kajihara H (2017) Chapter 16: Species diversity of Japanese ribbon worms (Nemertea). In: Motokawa M, Kajihara H (eds), *Species Diversity of Animals in Japan, Diversity and Commonality in Animals*, Springer Japan, pp. 419–444.
- Kajihara H, Nishi E, Kawabata M, Kohtsuka H, Uyeno D (2015) Records of the poorly known ribbon worm *Nipponnemertes ogumai* (Nemertea: Monostilifera) and its phylogenetic position. *Marine Biodiversity* 45: 175–182.
- Kalyaanamoorthy S, Minh BQ, Wong TKF, von Haeseler A, Jermin LS (2017) ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods* 14: 587–589.

- Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD (2017) MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* 20: 1160–1166.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547–1549.
- 松政正俊 (2016) 新しい干潟が教えてくれたこと。「生態学が語る東日本大震災—自然界に何が起きたのか—」(日本生態学会東北地区会 編). 文一総合出版、pp. 83–88.
- 松政正俊 (2019) 東北地方太平洋沖地震津波と復興事業に伴う生態系への影響. *月刊海洋*、583: 418–423.
- 松政正俊、木下今日子、伊藤萌、小島茂明 (2015) 三陸の渚: その大規模攪乱に対する脆弱性と頑強性. *DNA 多型* 23: 9–16.
- Matsumasa M, Kinoshita K (2016) Colonization of the restored and newly created tidal flats by benthic animals in the Sanriku region of northern Japan. In: Urabe J, Nakashizuka T (eds), *Ecological Impacts of Tsunamis on Coastal Ecosystems*, Springer Japan, pp. 117–132.
- Minh BQ, Nguyen MA, von Haeseler A (2013) Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular Biology and Evolution* 30: 1188–1195.
- Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ (2015) IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 32: 268–274.
- 新潟大学佐渡自然共生科学センター臨海実験所 (2022) 日本海佐渡海域水生生物標本リスト. 紐形動物門. <https://www.sc.niigata-u.ac.jp/sc/sadomarine/database.html> (Accessed: Jan. 31, 2022)
- Richlen ML, Barber PH (2005) A technique for the rapid extraction of microalgal DNA from single live and preserved cells. *Molecular Ecology Notes* 5: 688–691.
- 鈴木敦子 (2013) 臨海実習が始まりました! (ハンドルネーム「sakanso」での投稿) https://sakanso.wordpress.com/2013/07/11/臨海実習が始まりました! (Accessed: Jan. 22, 2022)
- 山岡貞一 (1947) おぐまひもむし. 「改訂増補 日本動物図鑑」(内田清之助他 編). 北隆館、p. 1468. (奥田四郎氏による投稿)
- Zhang D, Gao F, Jakovlić I, Zou H, Zhang J, Li WX, Wang GT (2020) PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies. *Molecular Ecology Resources* 20: 348–355.

みちのくベントス、6: 21–27