

高知県大月町から得られた *Trigonoporus cf. mirabilis*
(扁形動物門：多岐腸目)

A report of *Trigonoporus cf. mirabilis* (Platyhelminthes: Polycladida)
from Otsuki, Kochi

By

大矢佑基^{1*}・露木葵唯^{2,3}

Yuki OYA¹ and Aoi TSUYUKI^{2,3}

1. 桜美林大学リベラルアーツ学群 〒194-0294 東京都町田市常盤町 3758
College of Arts and Sciences, J. F. Oberlin University, 3758 Tokiwa, Machida, Tokyo, 194-0294, Japan
2. 北海道大学理学研究院 〒060-0810 北海道札幌市北区北 10 条西 8 丁目
Faculty of Science, Hokkaido University, N10 W8, Kita-Ku, Sapporo, Hokkaido, 060-0810, Japan
3. 北海道大学創成研究機構 〒001-0021 北海道札幌市北区北 21 条西 10 丁目
Creative Research Institute, Hokkaido University, N21 W10, Kita-Ku, Sapporo, Hokkaido, 001-0021, Japan

Abstract A single specimen of a polyclad belonging to *Trigonoporus* Lang, 1884 was collected from Otsuki, Kochi, Japan. The polyclad flatworm closely resembles *T. mirabilis* (Kato, 1938), which is a species described from Wakayama, in that they share *i*) the absence of tentacular eyespot clusters and *ii*) the presence of a vaginal duct pore opening near the female gonopore. However, the present flatworm is distinguished from *T. mirabilis* by the following characters: *i*) the position of a male gonopore and *ii*) the absence of post-genital glands. Here, we regard the specimen as *T. cf. mirabilis*. In this study, we provide histology of the copulatory apparatuses in *T. cf. mirabilis* and a partial sequence of the mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I (COI) gene as a DNA barcode for this species.

キーワード：DNA バーコーディング・ヒラムシ・無吸盤亜目・スチロヒラムシ上科・膾管

はじめに

Trigonoporus mirabilis (Kato, 1938) は和歌山県湯崎の低潮線にある、わずかに砂に埋まった石の裏から採集された 1 個体の標本に基づいて、*Bergendalia mirabilis* として新種記載されたヒラムシである。本種は 1940 年代以前に本邦から記載された多くのヒラムシと同様に原記載以降の採集記録が存在しない。また本種のタイプ標本は、Harada (1991) による京都大学瀬戸臨海実験所タイプ標本目録に見当たらず、加藤光次郎 (1906–1981) が記載した他のヒラ

ムシの標本とともに焼失したものと考えられる(鈴木 1981)。

日本沿岸のヒラムシ相調査の過程で、高知県大月町の潮間帯から 1 個体の *Trigonoporus* 属ヒラムシが得られた。高知県産標本は *T. mirabilis* とよく似ているが一部の形態形質にわずかな差異が認められた。本研究では高知県産標本を *T. cf. mirabilis* と同定し、本ヒラムシの生時の写真、雌雄交接器の組織像、およびチトクロム c 酸化酵素サブユニット I (COI) 遺伝子の部分配列を報告する。

方法と材料

採集および固定 標本は 2019 年 4 月 10 日に公益財団法人黒潮生物研究所付近の潮間帯にて実施したヒラムシ調査で採集された。得られた標本は 35%塩化マグネシウム水溶液で麻酔を施し、生時の背面および腹面の写真をデジタルカメラ (D5300, Nikon) を用いて撮影した。その後、DNA 抽出用標本として体縁部の一部を切り取り 99.5%エタノールで固定し、残りの虫体は形態観察のためにブアン液で一晩固定した。ブアン液固定標本は固定後に 70%エタノールで保管した。

標本作製および形態観察 形態観察用標本を虫体中央付近で頭部側断片と尾部側断片に切り分けた。頭部側断片はエタノールで脱水、キシレンで透徹したのちにカナダバルサムで封入してホールマウント標本とした。尾部側断片も同様に脱水・透徹したのちにパラフィンに包埋した。パラフィン包埋標本は回転式マイクロームを用いて厚さ 7 μm の矢状面連続切片を作製した。切片はヘマトキシリン・エオシン染色を施した後にエンテランニュー (Merck) で封入して組織切片標本とした。

ホールマウント標本と組織切片標本は光学顕微鏡 (BX41, OLYMPUS) に装着したデジタルカメラ (DP20, OLYMPUS) を用いて撮影した。撮影した組織切片標本は Thévenaz et al. (1998) のアルゴリズムに基づくプラグイン (Thévenaz 2011a, b) を導入した ImageJ (Rasband 1997–2023) を用いて連続切片像の位置合わせを行い、積層ファイルとした。さらに ImageJ (Rasband 1997–2023) の `reslice` コマンドによって矢状面切片像の積層ファイルから横断面像を作製した。本研究で作製した標本は北海道大学総合博物館 (ICHUM) に収蔵した。

塩基配列の決定 DNA 抽出用標本から DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。DNA バーコードとして Oya and Kajihara (2017) の方法に従い COI 遺伝子の部分配列 (712 bp) を決定した。得られた配列は BLAST® の `blastn` プログラム (Altschul et al. 1997) を用いて相同性を検索した。本研究で決定した配列は DDBJ/EMBL/GenBank データベースに登録した。

結果

Trigonoporus Lang, 1884

Trigonoporus cf. mirabilis (Kato, 1938)

(Figs. 1–2)

標本 ICHUM8563、ホールマウント標本(頭部側断片)および組織切片標本 14 枚(尾部側断片の矢状面連続切片、ヘマトキシリン・エオシン染色)、高知県大月町、潮間帯の砂に埋まった転石裏、2019 年 4 月 10 日、露木葵唯採集。

記載 体長 25 mm、体幅 6.3 mm、体形は帯状、体後端はやや尖る(Fig. 1A, B)。背面は薄茶色、咽頭周辺は黄味がかった茶色を呈し、体縁部は色素を欠く(Fig. 1A)。咽頭は 8.6 mm、体の中央より頭部側に位置し、腹面からは乳白色に見える(Fig. 1B)。輸精管は体壁を通して白く見えるが、輸卵管は本標本では確認できない。頭部には扇状に分布する多数の前方眼を有するが、脳域眼や触手眼のクラスターは見られない(Fig. 1C)。周辺眼は体縁部全域に分布

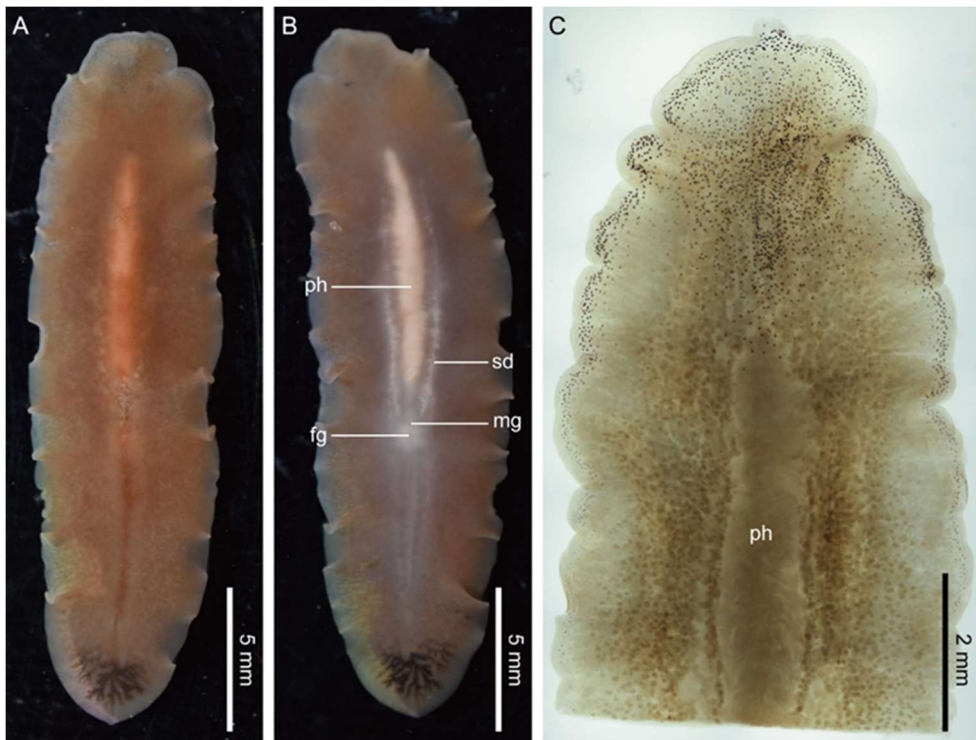


Figure 1. *Trigonoporus cf. mirabilis* collected from Otsuki, Kochi, Japan. Living worm (A, B) and whole mounted specimen (C). A: dorsal view; B: ventral view; C: cleared anterior body. Abbreviations: fg, female gonopore; mg, male gonopore; ph, pharynx; sd, sperm duct.

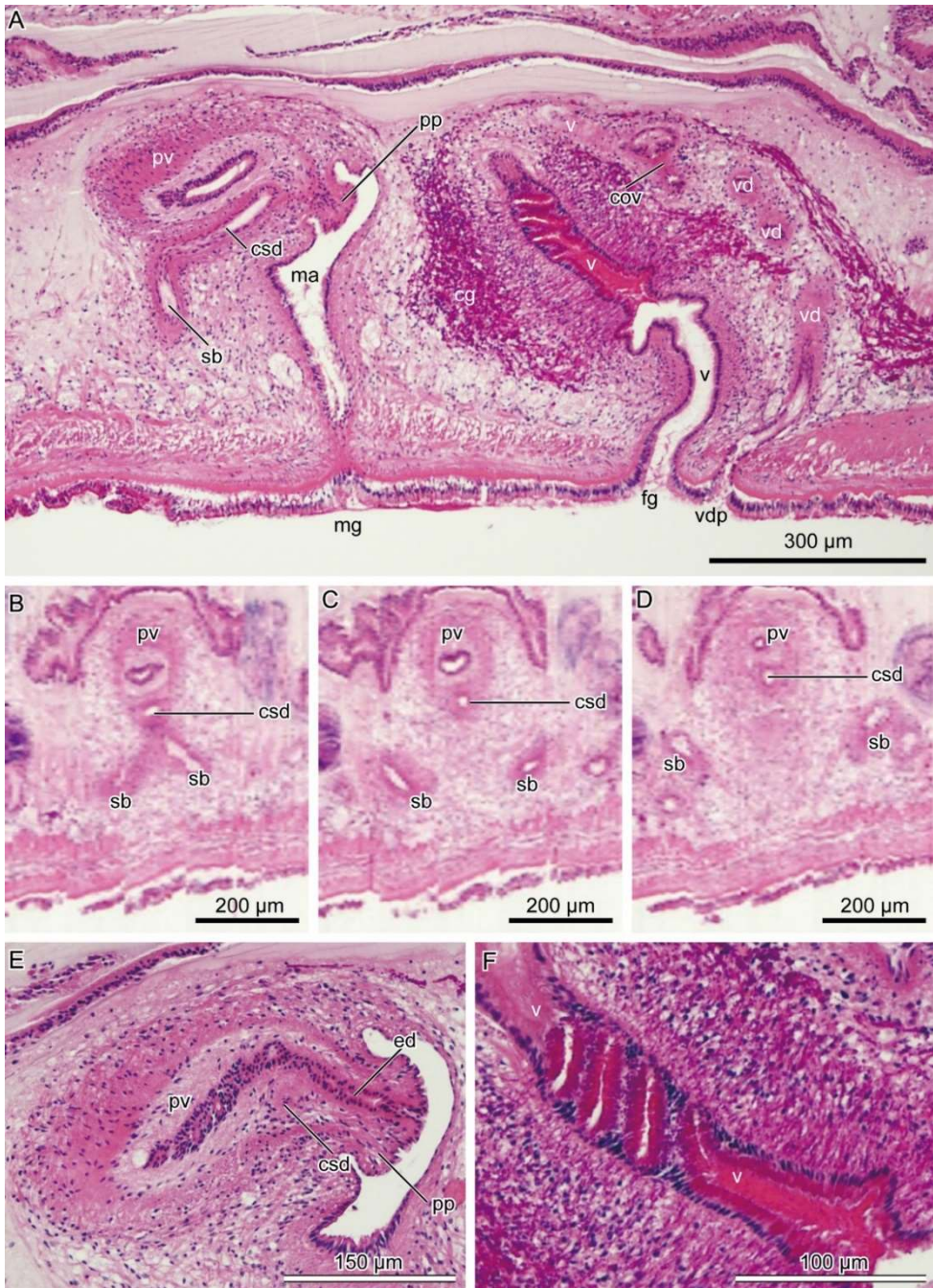


Figure 2. Copulatory apparatuses of *Trigonoporus* cf. *mirabilis*. Photomicrographs of sagittal section (A, E, F) and cross views generated from stacked sagittal sections by ImageJ (Rasband 1997–2023) (B–D). A: male and female copulatory apparatuses; B–D: running of spermiducal bulbs and common sperm duct; E: prostatic vesicle and penis papilla; F: vagina. Abbreviations: cg, cement gland; csd, common sperm duct; cov, common oviduct; ed, ejaculatory duct; fg, female gonopore; ma, male atrium; mg, male gonopore; pp, penis papilla; pv, prostatic vesicle; sb, spermiducal bulb; v, vagina; vd, vaginal duct; vdp, vaginal duct pore.

するが、頭部域に密在する。触手や触葉を欠く。雌雄交接器は咽頭の直後に位置し、雄性生殖孔は体後端から約 5 分の 2 の位置に開口する (Fig. 1B)。雄性交接器は左右一对の偽貯精囊と摂護腺囊、陰茎からなり、貯精囊を欠く (Fig. 2A)。一对の偽貯精囊の遠位部は共通輸精管を形成し、射精管に合流する (Fig. 2B–D)。偽貯精囊と共通輸精管はほぼ同じ厚さの筋壁を有する。摂護腺囊は楕円形で染色性の異なる二層の筋層を有し、内腔上皮は管状小室や襞状の構造を欠く (Fig. 2E)。陰茎は突起状で硬組織を欠く。雌性交接器は膻と膻管からなり、ラング氏囊を欠く (Fig. 2A)。膻中間部にはセメント腺が発達し、その近位部の内腔にはらせん状構造が見られる (Fig. 2A, F)。膻管は雌性生殖孔の直後に開口する。膻管と膻の長さほぼ等しい。膻管孔の後方には後生殖腺 (post-genital glands) の陥入は見られないが、発達した筋層が見られる。

塩基配列 相同性検索の結果、得られた配列 (LC773707) は *Notocomplana septentrionalis* (Kato, 1937) の COI 配列 (712 bp) と 81.43% の相同性を示した。

備考 高知県産標本は頭部に触手眼や脳域眼のクラスターを欠き、雌性生殖孔と膻管孔が近接することから *T. mirabilis* とよく似ている。本標本の生時の状態は *T. mirabilis* に比べて体長が小さく、またわずかに体幅も広い。また高知県産標本では雄性生殖孔が体後端から約 5 分の 2 の位置に開口するのに対し、*T. mirabilis* のそれは体後方の 4 分の 1 から 5 分の 1 の間に開口するとされる (Kato 1938)。また高知県産標本では Kato (1938) が *T. mirabilis* の特徴として挙げている後生殖腺が観察できなかった。後生殖腺は管状の陥入で形成される構造であり、*T. mirabilis* では膻管孔の後方に 2 つ存在するとされる (Kato 1938, text-fig. 3)。ただし、本標本は 1 個体しか得られておらず、また *T. mirabilis* の記載も 1 個体に基づくものである。したがって上述した形態差が個体差や切片作製時の影響などに起因するものであるのか検討できない。そこで本研究ではこのヒラムシを *T. cf. mirabilis* として報告する。

謝辞

標本採集にあたり自見直人博士 (名古屋大学) と長谷川尚弘氏 (北海道大学) には野外採集に協力いただいた。また柁原宏教授 (北海道大学) には本研究の証拠標本の収蔵に対応いただいた。この場を借りて感謝申し上げる。

引用文献

Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., and Lipman, D. J. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search

- programs. *Nucleic Acids Research*, 25 (17): 3389–3402.
- Harada, E. (1991) Inventory of zoological type specimens in the museum of the Seto Marine Biological Laboratory. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 35 (1–3): 171–233.
- Kato, K. (1938) Polyclads from Seto, middle Japan. *Japanese Journal of Zoology*, 7: 577–593.
- Oya, Y. and Kajihara, H. (2017) Description of a new *Notocomplana* species (Platyhelminthes: Acotylea), new combination and new records of Polycladida from the northeastern Sea of Japan, with a comparison of two different barcoding markers. *Zootaxa*, 4282 (3): 526–542.
- Rasband, W. S. (1997–2023) ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland. Available from: <https://imagej.nih.gov/ij/> (Accessed 17 March 2023)
- 鈴木実 (1981) 恩師加藤光次郎博士と分類学. 動物分類学会報, 54: 5–10.
- Thévenaz, P., Ruttimann, U. E., and Unser, M. (1998) A pyramid approach to subpixel registration based on intensity. *IEEE transactions on image processing*, 7 (1): 27–41.
- Thévenaz, P. (2011a) An ImageJ plugin for the recursive alignment of a stack of images. Available from: <http://bigwww.epfl.ch/thevenaz/stackreg/> (Accessed 17 March 2023)
- Thévenaz, P. (2011b) An ImageJ plugin for the automatic alignment of a source image or a stack to a target image. Available from: <http://bigwww.epfl.ch/thevenaz/turboreg/> (Accessed 17 March 2023)

(2023年6月2日受付; 2023年7月18日受理)