HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	淡水生カイミジンコ Cryptocandona sp.の背甲上から見つかったツリガネムシ目繊毛虫について
Author(s)	角井, 敬知; 宗像, みずほ
Citation	小樽市総合博物館紀要, 35, 13-16
Issue Date	2022-03-20
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/84545
Type	article
File Information	2022_Kakui_Munakata_Peritrichida.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

小樽市総合博物館紀要　35: 13–16, March 20, 2022

淡水生カイミジンコ *Cryptocandona* sp.の背甲上から見つかったツリガネムシ目繊毛虫について

角井 敬知[1, 3]・宗像 みずほ[2]

KAKUI, Keiichi[1, 3] & MUNAKATA, Mizuho[2], 2022: The protozoan *Lagenophrys* sp. (Peritrichida: Sessilida: Lagenophryidae) symbiotic on *Cryptocandona* sp. (Ostracoda: Podocopa: Candonidae) from Hokkaido, Japan. Bull. Otaru Mus., 35: 13–16.

We found the ciliophoran protozoan *Lagenophrys* sp. to be symbiotic on the freshwater ostracod *Cryptocandona* sp., collected from Makkari, Hokkaido, Japan. In Japan, this is the third record of *Lagenophrys* and the first case from ostracods. We present a nucleotide sequence for the 18S rRNA gene (1,683 bp) from *Lagenophrys* sp. In an 18S maximum-likelihood tree that included 57 peritrichid sequences, *Lagenophrys* sp. grouped with the usconophryid *Usconophrys* sp.

Key words: Ciliophora, epibiont, phylogeny, Podocopida, seed shrimp.

はじめに

カイミジンコ（貝形虫綱）は体の左右に背甲と呼ばれる二枚貝の殻のような構造を備えた甲殻類である．多くの種は体長数ミリメートル以下と小型である．これまでに約 9,330 種の現生種が報告されており，そのうち約 2,330 種が汽水域や淡水域，陸域といった非海洋環境に生息している（TRAN VAN *et al*., 2021）．

カイミジンコの体表共生生物として，ツリガネムシ目の繊毛虫が知られる．CHATTERJEE *et al*. (2020)によると, カイミジンコを利用する繊毛虫は 38 種が報告されており，そのうち 29 種がツリガネムシ類である．これまでに日本国内からカイミジンコを利用するツリガネムシ類の報告はないが，標本観察中にしばしば確認されるため（宗像みずほ，未発表），報告されていないだけで普通にみられるものと考えられる．

本研究では，第 2 著者が実施した北海道真狩村の淡水域での調査中に得られたカイミジンコ *Cryptocandona* sp.の背甲上に見つかったツリガネムシ類について，18S rRNA 遺伝子（18S）の塩基配列情報をもとにした系統的位置の推定結果とともに報告する．

材料と方法

カイミジンコは 2021 年 9 月 10 日に真狩村真狩樹木園の湧水（42°47'08.6"N 140°46'42.9"E）の底砂を洗い出すことで採集した（図 1A）．採集時の同湧水の水温は 6.5 度であった．ツリガネムシ類は，3 個体については有柄針を用いてカイミジンコの背甲から外し無水エタノールで固定, DNA 抽出に用いた. その他の個体は, カイミジンコとともに 80%エタノールで固定・保存した．

カイミジンコ背甲上のツリガネムシ類は，上昇エタノール系列で脱水，ヘキサメチルジシラザンを用いて乾燥, 金を蒸着した後, 走査型電子顕微鏡で観察した．本研究で用いた標本は北海道大学総合博物館に保管し

1 北海道大学大学院理学研究院．〒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, 060-0810 Japan.
2 北海道大学大学院理学院．〒060–0810 北海道札幌市北区北 10 条西 8 丁目．Graduate School of Science, Hokkaido University. N10 W8, Kita-ku, Sapporo, 060-0810 Japan.
3 責任著者. e-mail. kakui@eis.hokudai.ac.jp

た（収蔵番号 ICHUM6296）.

DNA 抽出と 18S 領域の PCR 増幅は KAKUI *et al*. (2021)に従った．シーケンシングには 5 種類のプライマー（18S-b3F, 18S-b4F, 18S-b4R, 18S-b5F, 18S-b6F ; KAKUI *et al*., 2011, 2021; KAKUI & SHIMADA, 2017）と BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems 社製）を用いた．決定した塩基配列は国際塩基配列データベース（INSD）に登録した（登録番号 LC651416）．得られた 18S 配列は，LIAO *et al*. (2021)のデータセットと外群の *Urceolaria parakorschelti* の 18S 配列（KP698204; IRWIN *et al*. [2015]; cf. JIANG *et al*. [2019]）とともに整列し，系統解析を行った．塩基配列の整列，分子進化モデル（GTR+G+I）の選択，最尤系統樹の推定は KAKUI *et al*. (2021)に従った．樹形の信頼性評価には 1,000 反復のブートストラップ法を用いた．整列済みデータセットは Figshare に登録・公開した（KAKUI, 2021）.

結果と考察

今回見つかったツリガネムシ類（図 1A, B）は，半球状のロリカ lorica を持つこと，ロリカ底面で宿主に固着すること，ロリカ開口部がロリカの縦軸に対して垂直に開口すること，ロリカ開口部に 1 対の唇（前唇 anterior lip と後唇 posterior lip）からなる閉口装置 closure apparatus を持つこと，閉口装置の閉口様式ががまロのように前唇縁と後唇縁が合わさり閉じる型であること，蓋 operculum を持たないこと，以上の特徴から Lagenophryidae 科の *Lagenophrys* 属の一種 *Lagenophrys* sp. だと同定された（cf. CLAMP, 1991; MAYÉN-ESTRADA & CLAMP, 2016）.

今回決定できた *Lagenophrys* sp.の 18S 配列の配列長は 1,683 塩基だった．1,479 座位からなる整列済みデータセットをもとに推定した最尤系統樹において，*Lagenophrys* sp.は Usconophryidae 科の *Usconophrys* sp. と高い信頼確率のもと姉妹群を形成した（図 1C ; ブートストラップ値（BP）＝ 100%）．*Usconophrys* 属は *Lagenophrys* 属と形態的によく似るが, 閉口装置を欠くなどの特徴から別科として扱われている（CLAMP, 1991）．本研究により 2 属の近縁性が DNA 配列情報から支持された．今後，Lagenophryidae 科と Usconophryidae 科の他の属の DNA 配列情報が決定されることで，2 科の系統関係の詳細が明らかになるであろう.

日本国内における Lagenophryidae 科の報告は，北海道の淡水域から得られたアナンデールヨコエビ *Jesogammarus* (*Annanogammarus*) *annandalei* に固着していた *Lagenophrys hokkaidos* と，北海道の淡水域から得られたスジエビ *Palaemon paucidens* に固着していた *Lagenophrys eupagurus* の 2 例があり（IMAMURA, 1940; JANKOWSKI, 1993; MAYÉN-ESTRADA & CLAMP, 2016），本報告で 3 例目，カイミジンコからは初の報告となる．これまでに本州以南から本科の報告はない.

カイミジンコを宿主とする Lagenophryidae 科は，*Lagenophrys discoidea* と *Lagenophrys stammeri* の 2 種が知られる（MAYÉN-ESTRADA & CLAMP, 2016; CHATTERJEE *et al*., 2020）. 前者はアルゼンチン, アメリカ, カナダ, 中国，スウェーデン，スイス，ウクライナと汎世界的な分布を示し, 宿主も Candonidae 科, Cyclocypridae 科, Cyprididae 科，Entocytheridae 科と幅広い．後者はこれまでにドイツの Candonidae 科の 1 種 *Cypria ophthalmica* の背甲上から報告されるのみである．汎世界分布と広い宿主幅を示す *L. discoidea* であるが, 本種が淡水域に生息する動物の固着性生物であることを考慮すると，今後世界各地で採集した個体の DNA 配列情報を用いた検討を行うことで，単一種でなく複数種の集合体であることが示される可能性も考えられる．今回発見した *Lagenophrys* sp.の種名についても，DNA 配列情報を用いた慎重な検討が望まれる.

カイミジンコを宿主とするツリガネムシ類や Lagenophryidae 科の日本国内からの報告の少なさは，これらの知名度の低さも関係していると考えられる．そこで今後の知名度向上と研究発展の一助となることを願い, Lagenophryidae 科と *Lagenophrys* 属それぞれに対し，和名「ガマグチカマクラムシ科」,「ガマグチカマクラムシ属」を新たに提唱する．本和名は，がまロのような閉口装置とかまくらのようなロリカの形状に因む.

謝辞

英文を校閲していただいた Matthew H. DICK 博士に感謝申し上げる．本研究の一部は，公益財団法人水産無脊椎動物研究所 2020 年度個別研究助成（研究代表

者：宗像みずほ）の助成を受けて実施された．

摘要

北海道真狩村で採集した淡水生カイミジンコ *Cryptocandona* sp.の背甲上から Lagenophryidae（ガマグチカマクラムシ科，新称）の *Lagenophrys*（ガマグチカマクラムシ属，新称）に属するツリガネムシ類 *Lagenophrys* sp.を発見した．日本国内における本属の発見は 3 例目，日本産カイミジンコからは初めての報告となる. 18S rRNA 遺伝子の塩基配列情報をもとにした系統解析の結果，ガマグチカマクラムシ属と *Usconophrys* 属との間の近縁性が示された．

引用文献

CHATTERJEE, T., I. DOVGAL, R. MAYÉN-ESTRADA & G. FERNANDEZ-LEBORANS, 2020. A checklist of ciliates (Ciliophora) inhabiting on ostracods (Crustacea, Ostracoda). *Zootaxa*, 4763: 17–30.

CLAMP, J. C., 1991. Revision of the family Lagenophryidae Butschli, 1889 and description of the family Usconophryidae n. fam. (Ciliophora, Peritricha). *Journal of Protozoology*, 38: 355–377.

IMAMURA, T., 1940. Two species of *Lagenophrys* from Sapporo. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 19: 267–270.

IRWIN, N. A. T. & D. H. LYNN, 2015. Molecular phylogeny of mobilid and sessilid ciliates symbiotic in eastern Pacific limpets (Mollusca: Patellogastropoda). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 62: 543–552.

JANKOWSKI, A. W., 1993. Taxonomy of Ciliophora. 2. New species of *Opercularia*, *Entziella* and *Circolagenophrys* from the Black Sea and Pacific, and taxonomic notes on other peritrichs (Peritricha). *Zoosystematica Rossica*, 2: 217–222.

JIANG, C.-Q., G.-Y. WANG, J. XIONG, W.-T. YANG, Z.-Y. SUN, J.-M. FENG, A. WARREN & W. MIAO, 2019. Insights into the origin and evolution of Peritrichia (Oligohymenophorea, Ciliophora) based on analyses of morphology and phylogenomics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 132: 25–35.

KAKUI, K., 2021. Aligned peritrichid 18S dataset used for phylogeny reconstruction on 27 September 2021. Figshare. Available at https://doi.org/10.6084/m9.figshare.16689472, 2021 年 10 月 22 日確認.

KAKUI, K. & D. SHIMADA, 2017. A new species of *Tanaopsis* (Crustacea: Tanaidacea) from Japan, with remarks on the functions of serial ridges and grooves on the appendages. *Zootaxa*, 4282: 324–336.

KAKUI, K., T. KATOH, S. F. HIRUTA, N. KOBAYASHI & H. KAJIHARA, 2011. Molecular systematics of Tanaidacea (Crustacea: Peracarida) based on 18S sequence data, with an amendment of suborder/superfamily-level classification. *Zoological Science*, 28: 749–757.

KAKUI, K., J. FUKUCHI & D. SHIMADA, 2021. First report of marine horsehair worms (Nematomorpha: *Nectonema*) parasitic in isopod crustaceans. *Parasitology Research*, 120: 2357–2362.

LIAO, W., P. H. CAMPELLO-NUNES, L. GAMMUTO, T. A. VIANA, R. O. MARCHESINI, T. S. PAIVA, I. D. DA SILVA-NETO, L. MODEO & G. PETRONI, 2021. Incorporating mitogenome sequencing into integrative taxonomy: the multidisciplinary re- description of the ciliate *Thuricola similis* (Peritrichia, Vaginicolidae) provides new insights into the evolutionary relationships among Oligohymenophorea subclasses. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 158: 107089.

MAYÉN-ESTRADA & R., J. C. CLAMP, 2016. An annotated checklist of species in the family Lagenophryidae (Ciliophora, Oligohymenophorea, Peritrichia), with a brief review of their taxonomy, morphology, and biogeography. *Zootaxa*, 4132: 451–492.

TRAN VAN, P., Y. ANSELMETTI, J. BAST, Z. DUMAS, N. GALTIER, K. S. JARON, K. MARTENS, D. J. PARKER, M. ROBINSON-RECHAVI, T. SCHWANDER, P. SIMION & I. SCHÖN, 2021. First annotated draft genomes of nonmarine ostracods (Ostracoda, Crustacea) with different reproductive modes. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 11: jkab043.

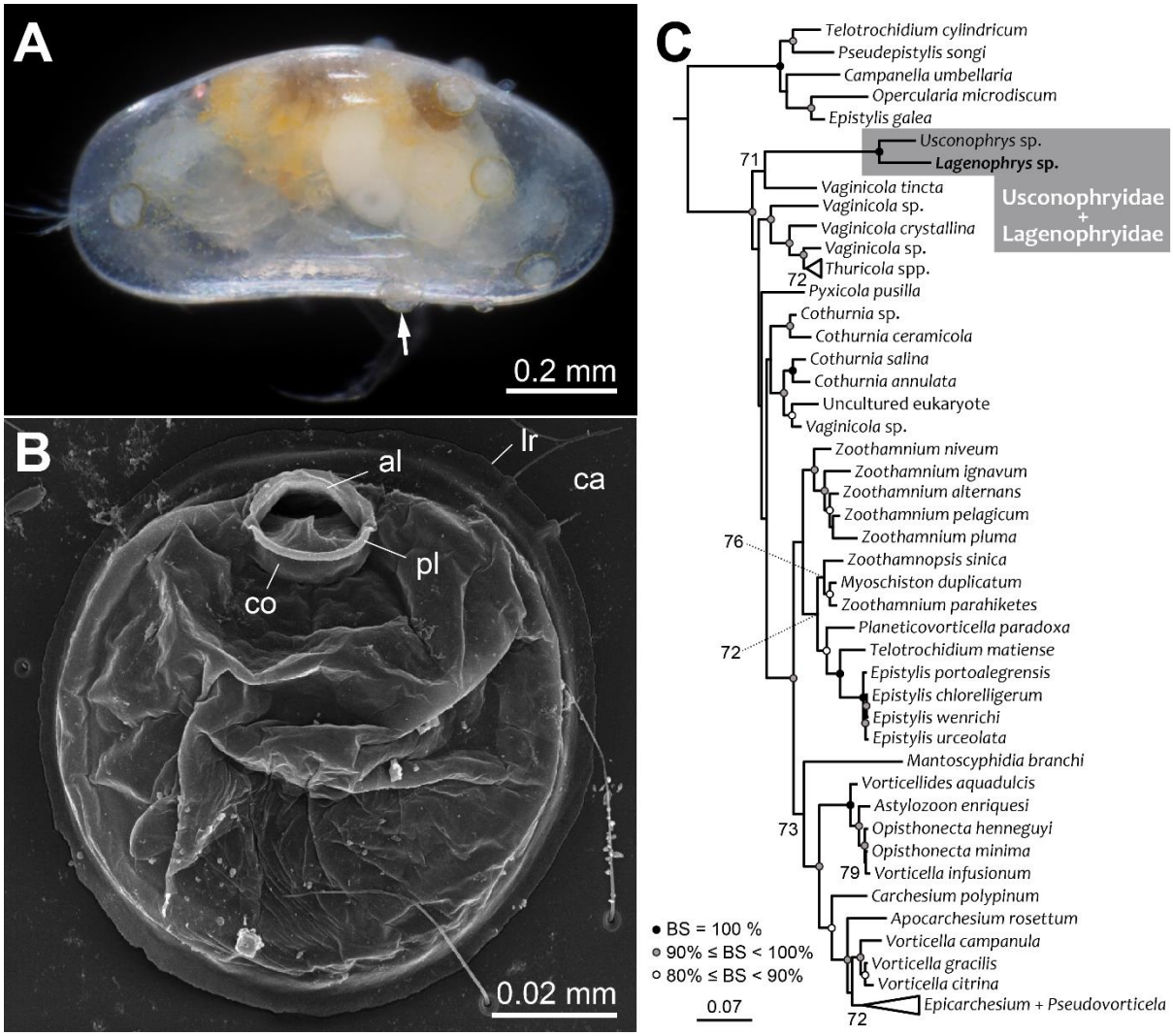

図 1. *Cryptocandona* sp.と *Lagenophrys* sp.の外観とツリガネムシ類の最尤系統樹．A, *Lagenophrys* sp.の固着した *Cryptocandona* sp.，生時．矢印は 1 個体の *Lagenophrys* sp.を示す．B, *Lagenophrys* sp.の走査型電子顕微鏡像（ロリカはサンプル作成の過程で変形している）．al，前唇; ca，背甲; co，襟; lr，ロリカ縁部; pl，後唇．C, 18S 遺伝子（1,479 座位）に基づく最尤系統樹．70%未満のブートストラップ値（BS），外群（*U. parakorschelti*）は省略.

Fig. 1. Habitus of *Cryptocandona* sp. and *Lagenophrys* sp., and maximum-likelihood (ML) phylogenetic tree for sessilidans. A, *Cryptocandona* sp. and *Lagenophrys* sp., living individuals; arrow indicates one *Lagenophrys* individual. B, Scanning electron microscope image of *Lagenophrys* sp. (lorica deformed during sample preparation). al, anterior lip; ca, carapace; co, collar; lr, lorica rim; pl, posterior lip. C, ML tree for 18S sequences (1,479 positions) from sessilidans. Bootstrap values (BS) < 70% and outgroup taxon (*U. parakorschelti*) not shown. The scale indicates branch length in number of substitutions per site. Aligned dataset used for phylogeny reconstruction deposited in figshare repository (KAKUI, 2021).