

生物圏科学  
Biosphere Sci.  
52 : 45–50 (2013)

瀬戸内海から採集されたドングリシャミセンガイ  
(腕足動物門, 無関節綱, シャミセンガイ科) の分類学的再検討

倉持卓司・上野香菜子・厚井晶子・長沼 毅

葉山しおさい博物館  
広島大学大学院生物圏科学研究科

Published by  
The Graduate School of Biosphere Science  
Hiroshima University  
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan  
December 2013

## 瀬戸内海から採集されたドングリシャミセンガイ (腕足動物門, 無関節綱, シャミセンガイ科) の分類学的再検討

倉持卓司<sup>1)</sup>・上野香菜子<sup>2)</sup>・厚井晶子<sup>2)</sup>・長沼 毅<sup>2)\*</sup>

<sup>1)</sup> 葉山しおさい博物館, 〒240-0111 神奈川県三浦郡葉山町一色2123-1

<sup>2)</sup> 広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

**要 旨** 日本の代表的な内海である瀬戸内海より得られたドングリシャミセンガイ *Lingula rostrum* (Shaw, 1798) の外部形態, および, 分子生物学的な比較検討を行った。試料は瀬戸内海の岡山県沖備瀬戸より得られたドングリシャミセンガイを用い, 倉持ら (2012) によるミドリシャミセンガイ *Lingula anatina* (奄美大島産) とウスバシャミセンガイ *Lingula reevii* (有明海産) の報告と比較した。ドングリシャミセンガイ (備讃瀬戸産) は, 殻の形態, および, 生時の肉茎の色彩により, 外部形態でミドリシャミセンガイ, ウスバシャミセンガイと区別される。

また, ドングリシャミセンガイ (備讃瀬戸産) の18S rRNA 遺伝子の塩基配列を, ミドリシャミセンガイ (奄美大島産) とウスバシャミセンガイ (有明海産) と比較したところ, ドングリシャミセンガイ (備讃瀬戸産) は, ミドリシャミセンガイ, および, ウスバシャミセンガイの両種とは異なるクレードに属することがわかり, 分子系統的にも離れた分類群として扱われるべきであることが示唆された。

**キーワード** : ウスバシャミセンガイ *Lingula reevii*, ドングリシャミセンガイ *Lingula rostrum*, ミドリシャミセンガイ *Lingula anatina*, 18S rRNA 遺伝子配列

### 諸 言

ドングリシャミセンガイ *Lingula rostrum* (Shaw, 1798) は, インドネシアの Ambon を模式産地として記載され, オーストラリア東岸から中国沿岸域までの太平洋に広く分布することが知られている (Cals and Emig, 1979; Emig, 1982)。日本列島周辺海域においては, これまでに瀬戸内海山口県門司, 高知県高松市庵治町沖, 相模湾江ノ島から記録されている (Adams, 1863; Hatai, 1940; 倉持ら, 2001; 明石ら, 2012)。これまで日本周辺海域からは, Emig (1982) の分類に準じた, 倉持ら (2001) の再検討の結果, ミドリシャミセンガイ *L. anatina* (Lamarck, 1801), ウスバシャミセンガイ *L. reevii* (Davidson, 1880), ドングリシャミセンガイ, オオシャミセンガイ *L. adamsi* (Dall, 1873) の4種が記録されている。しかし, その分類は未だに流動的であり, 分類学的な再検討の余地がある。

本報告では, 瀬戸内海より得られたドングリシャミセンガイ *Lingula rostrum* (Shaw, 1798) の試料をもとに外部形態, および, 分子系統学的な検討を行う。

### 材料と方法

本報告では, 岡山県沖備瀬戸で採集された試料を用いた。試料は, 生体の外部形態を観察後, 99% エタノール固定し, 試料の触手冠を遺伝子解析に用いた。

## 試料

ドングリシャミセンガイ *Lingula rostrum* (Shaw, 1798)

採集地 岡山県沖備讃瀬戸 水深24m 砂泥底 (2013年3月9日採集)

### 18S rRNA 遺伝子による分子系統解析について

#### 1. DNA 抽出及び PCR 法による 18S rRNA 遺伝子の増幅

18S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づき予察的な分子系統解析を行った。まず、エタノール固定した試料の殻を開き、触手冠を0.3~0.5g ほど切り取って DNA 抽出の材料とし、フェノール・クロロホルム法により DNA を抽出した。抽出した DNA は NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific) を用いて 260nm の紫外吸光度 (A<sub>260</sub>) を測定して DNA 濃度を算出し、その後の分子系統解析にたえる純度であることを確認した。

次に、得られた DNA を鋳型とし、酵素的遺伝子増幅法 (PCR 法) により DNA の 18S rRNA 遺伝子をコードする領域を増幅した。18S rRNA 領域の増幅には、真核生物に特異的なプライマーセットである EukF (5'-AAC CTG GTT GAT CCT GCC AGT-3') と EukR (5'-TGA TCC TTC TGC AGG TTC ACC TAC-3') を用い (Medlin *et al.* 1988), 濃度を 1-3ng/μl に調整した鋳型 DNA 1μl に対して, TaKaRa Ex Taq 0.05μl, 10× Ex Taq Buffer 1μl, dNTP Mixture (2.5mM) 0.8μl, Primer (10mM) 各 0.2μl, 超純水 6.75μl, の全 10μl のカクテルとして使用した。PCR 反応は、熱変性 94℃ 4分を 1 度行った後、熱変性 94℃ 1分, アニール 60℃ 1分, 伸長 72℃ 1分のステップを 30 サイクル行い、最後に 72℃ 10 分ほど伸長反応させた。

得られた PCR 産物 5μl に Exo SAP-IT (USB 社) を 2μl 添加し, 37℃ 15分, 80℃ @2a□

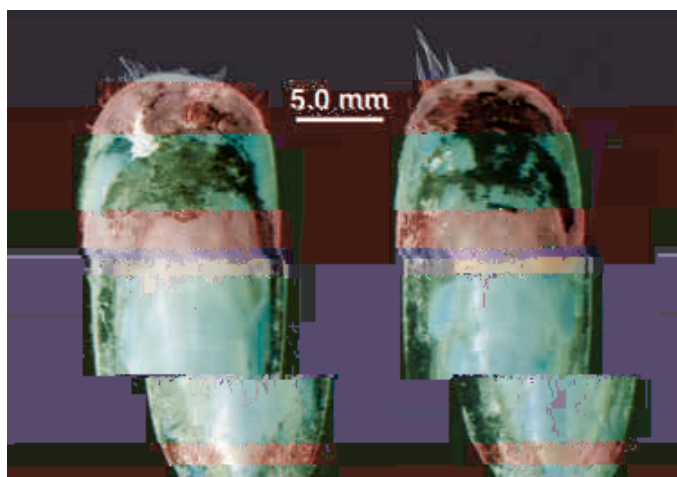


Fig. 1. Upper row, dorsal (1a), ventral (1b), views of *Lingula rostrum* (Shaw, 1798) (locality, off Okayama, Kibiseto, Seto Inland Sea).

比較

ミドリシャミセンガイ *Lingula anatina* (Lamarck, 1801) は、本種に比べ、殻はやや厚く、殻色はエメラルドグリーン。殻幅に対する殻長は、43-53% (平均47%) の長さになる。肉茎は肌色から薄い褐色で、殻長のおよそ1.5倍になる。また、ウスバシャミセンガイ *Lingula reevii* (Davidson, 1880) は、本種に比べ殻は厚く、殻色は黄緑色。殻幅に対する殻長は、42-53% (平均46%) の長さになる。肉茎は白色で、殻長のおよそ2倍になることで、本種は区別される。

分子系統分類的な考察

ドングリシャミセンガイ *Lingula rostrum* (備讃瀬戸産) から得られた18S rRNA 遺伝子のほぼ全長 (1630 bp) の塩基配列と 遺伝子データベースに登録された既知の塩基配列を比較して分子系統樹を描いたところ、ミドリシャミセンガイ *Lingula anatina* (奄美大島産)、および、ウスバシャミセンガイ *Lingula reevii* (有明海産) とは異なるクレードに属することが明らかになった (Fig. 2)。この結果は、同属とはいえ両種は異なる分類群として扱われるべきであることを示唆している。

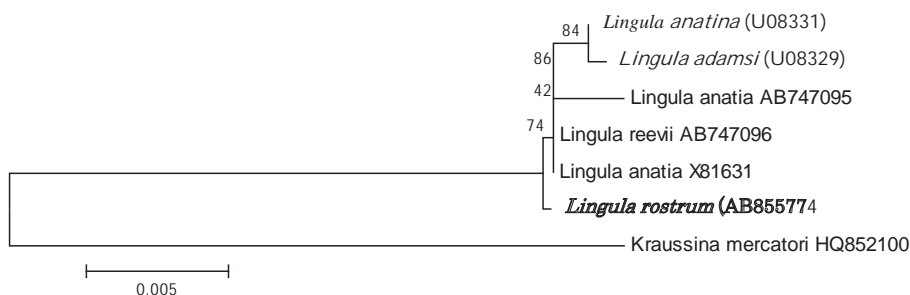


Fig. 2. Evolutionary relationships of taxa.

Phylogenetic tree to indicate separation of three resembling species, *Lingula rostrum* from Kibiseto, Seto Inland Sea, *Lingula anatia* from Amami-oshima Island, and *Lingula reevii* from Ariake Sea, based on 18S rRNA gene sequences.



- series, Geology*, **20**: 1-413 + pl.I-XII .
- 稲葉明彦 . 1983 . 瀬戸内海の生物相 (軟体動物) . 広島大学理学部付属向島臨海実験所, 広島県 : pp. 181.
- 倉持卓司・木村キワ・藤本和恵 . 2001 . 日本周辺海域産シャミセンガイ属の再検討 . *南紀生物* . **43** : 112-116.
- 倉持卓司・厚井晶子・柏原克彦・長沼 毅 . 2012 . 日本産ミドリシャミセンガイとウスバシャミセンガイ(腕足動物門: 舌殻綱) の分類学的再検討 . *生物圏科学* . **51** : 27-35 .
- Medlin, L., Elwood, H. J., Stickel, S., Sogin, M. L., 1988. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene*, **71**: 491-499.
- Saitou, N., Nei, M., 1987. The Neighbor-Joining Method—a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.*, **4**: 406-425.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol.*, **28**: 2731-2739.
- 和田恵次・西平守孝・風呂田利夫・野島 哲・山西良平・西川輝昭・五嶋聖治・鈴木孝男・加藤 真・島村賢正・福田 宏 . 1996 . 日本における干潟海岸とそこに生息する底生生物の現状 . *WWF Japan science report* . **3** : 1-182.
- 吉郷英範 . 2004 . 広島県竹原市の河口干潟で確認されたウスバシャミセンガイ (腕足動物門) . *比婆科学* . **214** : 1-5.

***Lingula rostrum* collected from the Seto Inland Sea  
(Brachiopoda, Inarticulata, Lingulidae)**

Takashi KURAMOCHI<sup>1)</sup>, Kanako UENO<sup>2)</sup>, Akiko KOI<sup>2)</sup> and Takeshi NAGANUMA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Hayama shiosai Museum, 2123-1 Isshiki, Hayama, Kanagawa, 240-0111, Japan

<sup>2)</sup>Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University 1-4-4 Kagamiyama,  
Higashi-Hiroshima, 739-8528, Japan

**Abstract** The brachiopod *Lingula rostrum* (Shaw, 1798) collected from Japanese waters was compared morphologically and phylogenetically in terms of shell morphology with *L. anatina* and *L. reevii* (Kuramochi *et al.*, 2012). 18S rRNA gene sequences were also compared with other *Lingula* species. The specimens of *L. rostrum*, *L. anatina*, and *L. reevii* were collected from Seto Inland Sea (Off-Okayama, Bisanseto), Amami-Oshima Island, and Ariake Sea, respectively, and used for comparison. The shell of *L. rostrum* was distinguished from *L. anatina* and *L. reevii* by allometric morphology and fresh tissue coloration. Based on the 18S rRNA gene sequences of *L. rostrum* along with those from *L. anatina*, *L. reevii*, and other species registered in a DNA database, a phylogenetic tree was constructed. The brachiopod *L. rostrum* was placed in a separate clade from other *Lingula* species, which suggests that *L. rostrum* should be regarded as non-closely related species.

**Key words:** *Lingula anatina*, *Lingula reevei*, *Lingula rostrum*, 18S rRNA gene sequences