

# 形態的特徴および DNA バーコーディングにより同定した オトヒメテッポウエビの新産地報告

平岡 礼鳥

## 1. はじめに

オトヒメテッポウエビ属 (*Automate*) はテッポウエビ科に属し、世界で11種が報告されており (Wang & Sha., 2017)、日本からは *A. dolicognatha* と *A. hayasii* の2種が報告されている (Anker & Komai., 2004)。Banner and Banner (1973) は *A. gardineri* や *A. johnsoni* などを *A. dolicognatha* の新参異名としてまとめたが、Anker & Komai (2004) は複数の隠蔽種が含まれている可能性を指摘している。吉郷 (2009) は日本に生息している *A. dolicognatha* の形態および生息環境の違いから *A. johnsoni* を含んだ2種に分けられる可能性を報告している。このように *A. dolicognatha* の分類は現状未整理であるため、本研究におけるオトヒメテッポウエビは名義種である *A. dolicognatha* を採用した。

オトヒメテッポウエビの分布域は広く、東太平洋を除く熱帯域から報告されている (林, 1995)。日本国内では九州北部、有明海、神奈川県などで報告されており、神奈川県が生息分布域の北限と考えられている (林, 1995; 野村ら, 1998)。黒潮の影響が切れる房総半島付近が分布限界であると予想されるが、千葉県での報告例はない。

著者は千葉県においてエビ類の採集を継続的にやっているが、その過程においてオトヒメテッポウエビと考えられるサンプルを採集した。本報では採集したサンプルの形態的特徴およびDNAバーコーディングの結果について報告する。

## 2. 材料と方法

### 2. 1. 試料採集と測点

2016年6月27日、2018年4月21日、千葉県館山市汐入川河口 (図1) にて、口径50cmのタモ網を用いた調査を行い、各月1個体の計2個体のサンプルを採集した。サンプルは抱卵の有無を確認した後、約5°Cの海水にて数分間放置する氷冷麻酔を行い、頭胸甲長の測定および写真撮影を行った。測定後、99%エタノールにて液浸標本とし、冷蔵にて保管した。形態的特徴の観察および描画には実体顕微鏡と描画装置を用いた。

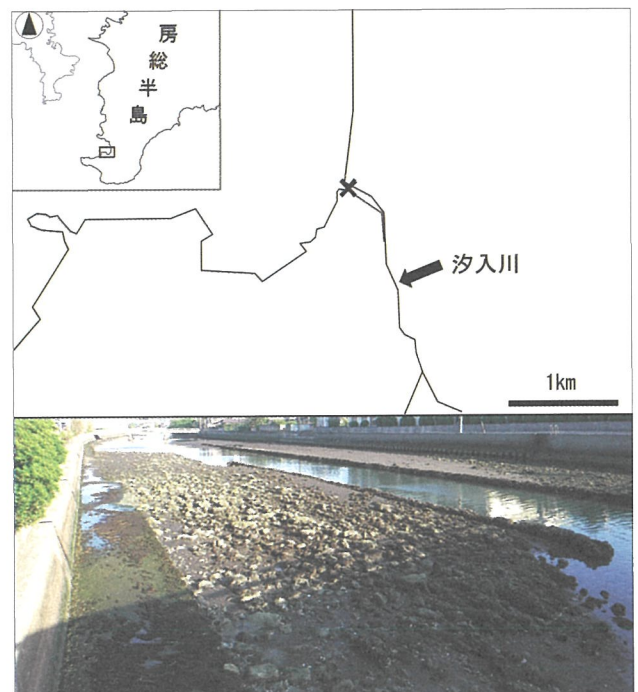


図1 千葉県館山市汐入川河口におけるオトヒメテッポウエビの採集地点 (x: N34°59' 37", E139°51' 28")。

## 2. 2. 塩基配列分析

市販のDNA抽出キットDNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen社) を使用し、各個体の筋肉組織から全DNAを抽出した。抽出したDNAを用いてPCR(反応条件: 熱変性94°C3分後、熱変性94°C30秒、アニーリング44°C30秒、伸長反応72°C60秒を30サイクル、最後に伸長反応72°C10分) を行い、ミトコンドリアDNA 16SrRNA遺伝子領域の部分配列を増幅した。PCR反応液の組成は滅菌蒸留水10.5µl、HsExTaq (タカラバイオ社) 12.5µl、10µMプライマー2種:1471 (5'-CCTGTTTANCAAAAACAT-3') および1472 (5'-AGATAGAAACCAACCTGG-3') (Crandall & Fitzpatrick., 1996) 各0.5µl、抽出DNA1µlの計25µlである。1.5%アガロースゲルを用いた電気泳動によりDNAの増幅を確認し、illustra ExoProStar (GE Healthcare社) を用いて、PCR産物を酵素処理により精製し、シーケンス用テンプレートとして調整した。なお、シーケンサーによる塩基配列の決定は株式会社

北海道システムサイエンスに委託した。CLUSTAL W (Thompson *et al.*, 1994) により塩基配列のアライメントを行い、MEGA7 (Kumar *et al.*, 2016) を用いてKimura-2-parameter method (Kimura, 1980) による個体間および種間の遺伝的距離を算出した。

## 3. 結果

### 3. 1. 形態的特徴

採集したサンプルは抱卵雌1個体、頭胸甲長、0.6 cm (図2A、B)、雌雄不明1個体、頭胸甲長、0.4 cm (図2C) である。

小鉗脚(第1胸脚)は長節に不動棘を有さず、指節は長さが幅の約2.7倍であり、掌部はやや細長かった。指節には外縁部に剛毛が多数みられた(図3A)。なお、オトヒメテッポウエビ属は通常第1胸脚が左右不相称であるが(林, 1995)、本研究にて採集された個体は大鉗脚が欠損していたため、記載はできなかった。第2歩脚の腕節は5分節からなり、約5:10:3:2:4の割合を示し、第2節が最も長かった(図3B)。第3胸脚は長節に不動棘を有さず、前節には5本の可動棘を有した。指節は長さが幅の約3.8倍と細長かった(図3C)。頭胸甲の前縁中央部は大きく湾曲し、小さな額角があった。額角は頭胸甲の前縁に届かず、眼の大部分が背面から見えた。第1触角の柄部第2節は細

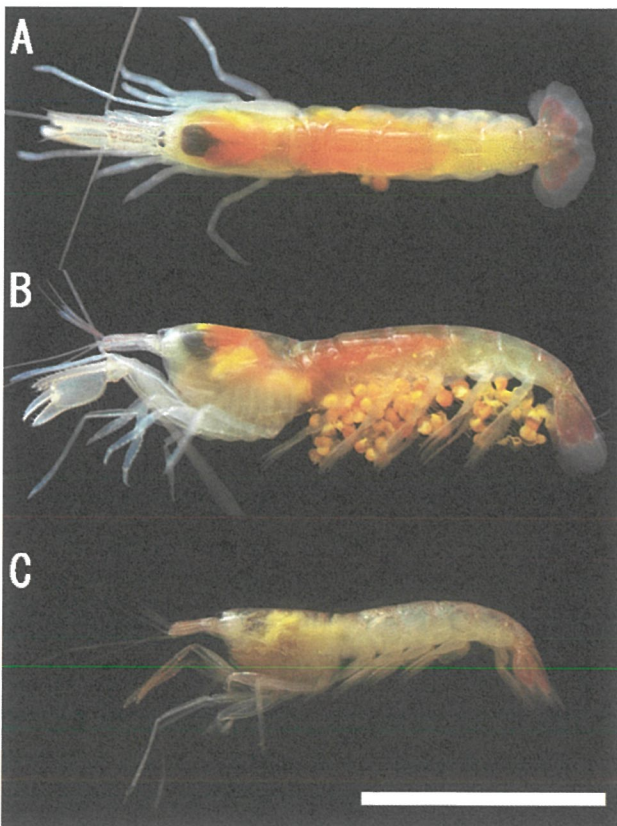


図2 オトヒメテッポウエビ  
A; 抱卵雌(頭胸甲長0.6mm)、B; 雌雄不明(頭胸甲長0.4mm)。生時の色彩を示す。

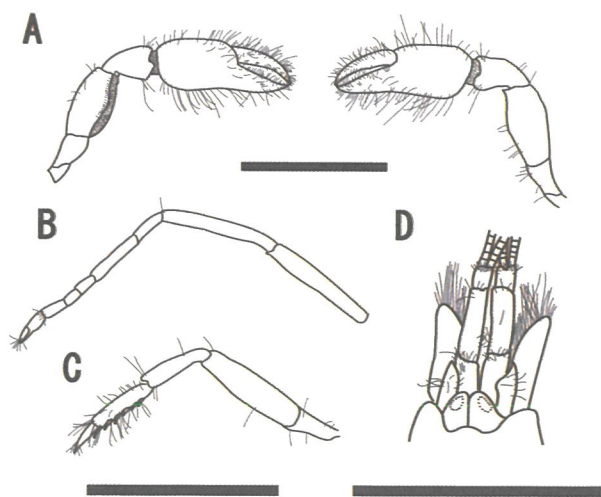


図3 オトヒメテッポウエビ  
A~D; 抱卵雌、(頭胸甲長0.6mm)。A; 小鉗脚(第1胸脚)、B; 左第2胸脚、C、第3胸脚、D; 頭胸甲前部および頭部付属肢。スケールはすべて1cm。

長く、長さが幅の約3.5倍であった。触角鱗は第1触角の柄部第2節中央にまで届いた (図2A、図3D)。

### 3. 2. 生時の体色

全体的に橙褐色で、胸脚、尾節、第1触角の付属肢は半透明に褐色の色素が散在していた (図2A~C)。抱卵雌は内臓を含め橙褐色が強く、卵も橙褐色であった (図2A、B)。

### 3. 3. 塩基配列分析

Gen Bankに登録されているオトヒメテッポウエビ属4種 (*Automate* sp. EU868635、*A. rectifrons* EU868631、*Automate* cf. *dolichognatha* KF023117、*A. gardineri* AF501649)におけるミトコンドリアDNA 16SrRNAの部分配列 (451 bp) を対象に比較を行った。採集したサンプル間の遺伝的距離は1%以下であり、遺伝的距離に差はみられなかった。採集したサンプルを含めたオトヒメテッポウエビ属5種における遺伝的距離は平均22.9% (0.00%~37.5%) であり、遺伝的距離に明確な差が認められた。採集した2個体は比較した種の中では*Automate* cf. *dolichognatha* KF023117と最も近く11.7%であり、*A. rectifrons* EU868631と最も遠く、32.0%であった。また、*Automate* cf. *dolichognatha* KF023117と*A. gardineri* AF501649における遺伝的距離は17.0%と2種間には遺伝的な差異が認められた (表1)。

## 4. 考察

形態的特徴から、採集個体はオトヒメテッポウエビと同定され、これは千葉県における本種の初報告であると同時に生息分布域の北限記録である。日本に生息

するテッポウエビ類は熱帯サンゴ礁域を源とする大多数のインド・西太平洋系種と日本周辺海域で分化を遂げた少数の東亜系種に大別される (野村ら, 1998)。インド・西太平洋系種の分布は黒潮の影響が途切れる房総半島付近が分布限界であると想像されるが、報告されている種の多くが神奈川県を日本における分布の北限としている (野村ら, 1998)。これは千葉県におけるテッポウエビ類に関する調査が十分にされていないことが要因の一つとして考えられる。今後、調査を継続的に実施することで千葉県下におけるテッポウエビ類の多様性を把握する必要がある。

吉郷 (2009) は河口域とサンゴ礁タイドプールに生息するオトヒメテッポウエビは別種である可能性を示唆しており、河口域産は*A. johnsoni*、サンゴ礁産は*A. gardineri*と形態的によく一致すると報告している。本研究にて採集されたサンプルは河口域産であると同時に、第1触角の柄部第2節、触角鱗、第3歩脚の指節などの形態がサンゴ礁産とは異なっており、*A. johnsoni*とよく一致した。日本産のオトヒメテッポウエビには複数種混在している可能性があり、吉郷 (2009) の結果を支持する形であった。今後タイプ標本を基とした分類学的な再検討が必要である。

16SrRNA領域は、種間の遺伝的距離に差があることに加え、個体間変異が非常に少ないことから、オトヒメテッポウエビ属の種判別に有効な領域である。しかし、本研究により得られた結果は、形態による同定を確証するにはいたらなかった。中国の研究者らにより登録されたオトヒメテッポウエビ (KF023117) は*A. gardineri* AF501649とも遺伝的に離れており、日本産のサンゴ礁域に生息するオトヒメテッポウエビとも別種である可能性が示唆される。世界中に分布し

表1 採集したオトヒメテッポウエビ2個体とオトヒメテッポウエビ属4種 (*Automate* sp. EU868635, *Automate rectifrons* EU868631, *Automate* cf. *dolichognatha* KF023117, *Automate gardineri* AF501649) におけるミトコンドリアDNA 16SrRNAの部分配列 (451 bp) の個体間および種間の遺伝的距離。

	1	2	3	4	5
1 <i>Automate</i> cf. <i>dolichognatha</i> Shioiri river 1					
2 <i>Automate</i> cf. <i>dolichognatha</i> Shioiri river 2	0.000				
3 <i>Automate</i> cf. <i>dolichognatha</i> KF023117	0.117	0.117			
4 <i>Automate gardineri</i> AF501649	0.153	0.153	0.170		
5 <i>Automate rectifrons</i> EU868631	0.320	0.320	0.341	0.375	
6 <i>Automate</i> sp. EU868635	0.311	0.311	0.324	0.352	0.065

ているオトヒメテッポウエビには多くの隠蔽種が含まれていると考えられ、今後、遺伝的な情報の蓄積が急務である。

#### 参考文献

- Anker, A. and Komai, T. 2004. Descriptions of two new species of alpheid shrimps from Japan and Australia, with notes on taxonomy of *Automate* De Man, *Coronalpheus* Wicksten and *Bermudacaris* Anker and Iliffe (Crustacea: Decapoda: Caridea). *Journal of Natural History*, 38: 1895–1914.
- Banner, D. M. and Banner, A. H. 1973. The alpheid shrimp of Australia. Part I: The lower genera. *Records of the Australian Museum*, 28(15): 291–382.
- Crandall, Keith A. and J. F. Fitzpatrick, Jr. 1996. Crayfish molecular systematics: using a combination of procedures to estimate phylogeny. *Systematic Biology*, 45. 1: 1–26.
- 林健一. 1995. 日本産エビ類の分類と生態. (85) テッポウエビ科-オトヒメテッポウエビ属, ノコギリテッポウエビ属. *海洋と生物*, 101: 520–524.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular evolution*, 16: 111–120.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7. 0 for bigger database. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870–1874.
- 野村恵一・萩原清司・池田等. 1998. 神奈川県下で記録されたテッポウエビ類. *神奈川自然誌資料*, 19: 39–48.
- Thompson, J. D., Desmond G. H. and Toby J. G. 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*, 3, 22, 22: 4673–4680.
- Wang, Y. R. and Sha, Z. L. 2017. Description of two new species of the genus *Automate* De Man, 1888 (Crustacea: Decapoda: Caridea) from the South China Sea. *Zootaxa*, 4238, 1: 30–42.
- 吉郷英範. 2009. 日本の河口域とアンキアラインで確認されたテッポウエビ科エビ類 (甲殻類: エビ目). *比和科学博物館研究報告*, 50: 221–273.